Gheorghe TOACŞE

Ana Maria TOACŞE

INCERTITUDINE şi VALIDARE

Pentru laboratoarele medicale


Editura MEDICALĂ
BUCUREŞTI, 2008

Gheorghe TOACŞE

Ana Maria TOACŞE

INCERTITUDINE şi VALIDARE

PENTRU LABORATOARELE MEDICALE

Cumpărată de Dr. Rodica Fântânaru
azi 18.02.2009; să fie un ajutor în vederea
acreditării laboratorului de analize medicale
al Spitalului Clinic de Boli Infecţioase Iaşi

Şef laborator:

Editura MEDICALĂ
BUCUREŞTI, 2008

Cuvânt înainte

În ultimii ani, îndeplinirea cerinţelor pentru calitatea rezultatelor analizelor efectuate în laboratorelor medicale şi a compatibilităţii acestor rezultate între laboratoare a devenit o preocupare curentă. În acest sens, a apărut evidentă introducerea unor concepte noi definite prin termenii/noţiunile ca: validare, calitate, trasabilitate metrologică, variabilitate analitică sau incertitudine de măsurare.

Introducerea acestor noi concepte, în practica curentă, nu de puţine ori, este însoţită de o anumită rezistenţă. Sunt mai multe motive pentru care asimilarea şi implementarea acestora nu este tocmai simplă şi rapidă, dar câteva mai importante sunt:

- noţiunile nu sunt înţelese/explicate corect, presupunând şi o reinstruire;
- implemetarea acestora necesită un efort de organizare şi chiar investiţional, care nu au un efect imediat;
- nu sunt clare avantajele aplicării lor.

Acestă lucrare vine în sprijinul specialiştilor de laborator, realizând o introducere simplă şi graduală a acestor noţiuni, dar fără a le goli de semantica proprie. Pentru aceasta, întreaga lucrare abordează o expunere bazată pe explicaţii accesibile, cu foate multe exemplificării din practica laboratoarelor, ceea ce face ca aceste concepte, aparent abstracte, să fie uşor întelese de către cititor şi să devină noţiuni operative, chiar prietenoase. Numeroasele exemple, care însoţesc explicaţiile, sunt cazuri reale ce pot fi utilizate pentru procesul de validare şi de determinare a incertitudinii pentru metodele analitice de laborator.

Lucrarea se adresează specialiştilor din laboratoarele medicale, fiind un suport în însuşirea şi implementarea acestor noi concepte pentru practica curentă de laborator. Totodată, este utilă şi medicilor clinicieni pentru însuşirea modului nou de interpretare a rezultatelor analizelor de laborator însoţite de valoarea incertitudinii de măsurare, precum şi studenţilor de la medicină şi biologie.

Mulţumim Nicoletei Cucu-Laurenciu pentru sprijinul acordat în procesarea materialului pentru această carte.

Braşov, septembrie 2008 Autorii

Editura Medicală este marcă înregistrată a **S.C. EDITURA MEDICALĂ S. A.** – J40/8199/1991.

Descrierea CIP a Bibliotecii Naţionale a României
TOACŞE GHEORGHE

Incertitudine şi validare: pentru laboratoarele medicale/Gheorghe Toacşe, Ana Maria Toacşe – Bucureşti: Editura Medicală, 2008

ISBN 978-973-39-0666-7

542:616-074

Cuprins



Nobody can
escape the
mathematicans
So let us try to
calculate
measurement
uncertainties

.....

Capitolul 1

DISTRIBUŢII DE PROBABILITATE

Exemplul 1.1 Pentru determinarea unei probe de glucoză în ser se efectuează consecutiv, într-un timp scurt, zece măsurări şi se obţin următoarele valori [mg/dL]: 95,3; 87,5; 89,5; 92; 98; 90,5; 94,5; 85; 94; 83. Se observă că valorile obţinute au o variaţie aleatorie (engl. aleatory = întâmplător, stohastic). Se pune întrebarea, care este, de fapt, valoarea estimată pentru proba măsurată ?
Un răspuns se poate obţine dacă şirul de măsurări se consideră ca fiind valorile unei variabile aleatorii, pentru care utilizând noţiuni de probabilitate, se procesează şi se extrage informaţia conţinută în dispersia valorilor acestui şir. Noţiunile de distribuţie de probabilitate, necesare pentru o operare cu o variabilă aleatorie, sunt prezentate în primul capitol al acestei cărţi.

1.1 EVENIMENT ALEATORIU

- **Variabilă aleatorie** - variabilă care poate lua orice valoare într-un ansamblu de valori şi căreia i se asociază o distribuţie de probabilitate. Generic, se notează o variabilă aleatorie cu literă mare X, iar valori concrete pentru această variabilă se notează cu literă mică, de exemplu $x_1, x_2, x_3, \ldots$. Variabila aleatorie poate fi:

    1. **Variabilă aleatorie continuă**, care poate lua orice valoare într-un interval finit sau infinit, de exemplu: $X \in [x_1, x_2)$ sau altfel exprimat $x_1 \leq X < x_2$; Uneori limitele intervalului în care variabila aleatorie ia valori se exprimă în funcţie de o valoare particulară din interiorul acestui interval, de exemplu în funcţie de o valoare μ, $X \in [\mu - a_-, \mu + a_+]$ sau $\mu - a_- \leq X \leq \mu + a_+$, unde a_- şi a_+ sunt două numere diferite.

În cazul în care $a_- = a_+ = a$, adică intervalul se compune din două semiintervale a simetrice faţă de valoarea μ, atunci pentru exprimarea acestui tip de interval, $\mu - a \leq X \leq \mu + a$, se poate utiliza notaţia în modul (vezi analiza de pagina 13)

$$|X - \mu| \leq a$$

De exemplu, un astfel de interval simetric poate prezenta un material de referinţă care are valorile limită 35 şi 45 mg/dL iar valoarea ţintă 35 mg/dL (media celor două valori), exprimarea intervalului este $|X - 35| \leq 5$.

2. **Variabilă aleatorie discretă**, care poate lua doar valori izolate într-un interval, de exemplu: $X \in \{0,1,2,3,4,5\}$

- **Probabilitate** - număr real pe scara de la 0 la 1 ($0 \leq p \leq 1$), asociat unui eveniment aleatoriu A. Probabilitatea unui eveniment aleatoriu A este notată cu $P(A) = p$. Există două modalităţi de interpretare a probabilităţii (bazate pe):

1. **Frecvenţa relativă** cu care se produce evenimentul. Repetând de un număr de n ori măsurarea unei mărimi X se constată că de m ori rezultatul măsurărilor cade într-un anumit interval de valori $[x_1, x_2]$; raportul m/n, pentru un număr n de măsurări foarte mare, care este frecvenţa relativă de a cădea în intervalul de valori $[x_1, x_2]$, se apropie de un număr bine determinat (caracteristica intervalului) numit probabilitatea ca variabila aleatorie x să ia valori în acest interval:

$$P(x_1 \leq X \leq x_2) \approx m/n$$

În acest caz probabilitatea (m/n) apare ca un caz ideal al frecvenţei relative a variabilei X de a cădea în intervalul $[x_1, x_2]$. De exemplu, prin măsurarea de 100 de ori a unei probe de glucoză în ser se constată că de 37 ori valorile obţinute se situează în intervalul [80mg/dL, 86mg/dL], deci probabilitatea ca valorile probei măsurate să se plaseze în acest interval este de $37/100 = 0,37$, sau procentual 37%.

2. **Gradul de încredere** atribuit producerii unui eveniment $P(A) = p$. De exemplu, dacă probabilitatea de producere a unui eveniment A este $P(A) = 0,5$, atunci gradul de încredere că evenimentul A nu se produce este $(1 - P(A))$; în acest exemplu gradul de încredere că evenimentul se produce este de 0,5 (50%) şi este egal cu gradul de încredere de 0,5 (50%) că evenimentul nu se produce.

- **EXPERIMENT** (eveniment aleatoriu).
  Spre un punct ţintă, fixat pe plaje, se aruncă succesiv 100 de bile, împrăştierea/dispersia bilelor pe nisip în jurul punctului ţintă va fi similară cu cea reprezentată în Figura 1.1-a. Dacă se numără bilele de la stânga la dreapta, în lungul axei X, se poate determina câte bile se află pe câte o unitate de lungime, de exemplu o unitate de lungime poate fi luată de 20 cm, aceste numere obţinute reprezintă o densitate de bile pe unitatea de lungime (de 20 cm). Reprezentând aceste densităţi de bile pe unitatea de lungime (densitate liniară) în lungul axei X se obţine o curbă ca cea din Figura 1.1-b, această curbă este o reprezentare grafică a modelului matematic care descrie variaţia densităţii liniare a numărului de bile din acest experiment. Pentru experimente care au o astfel de distribuţie de densitate ca cea descrisă există un model matematic (o exprimare printr-o relaţie) - **distribuţia de tip Gauss (legea de distribuţie normală a unei variabile aleatorie)**, existenţa unui model matematic pentru un experiment face posibil studiul acestuia pe model fără ca să se realizeze fizic experimentul.

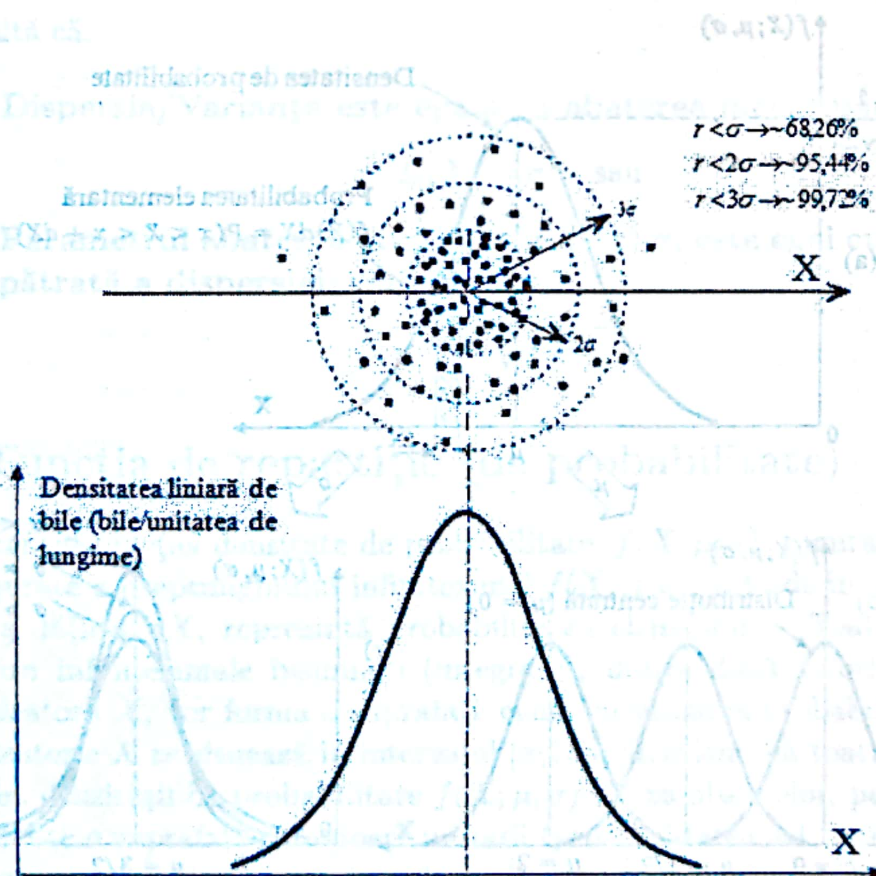


Figura 1.1 Reprezentarea pentru experimentul descris: a) dispersia /împrăştierea b) variaţia densităţii liniare

1.2 DISTRIBUŢIA NORMALĂ

Distribuţia de tip Gauss este referită şi ca distribuţie normală deoarece multe procese aleatorii întâlnite în natură şi societate pot fi descrise prin acest tip de model matematic.

- **Funcţia de densitate de probabilitate** pentru distribuţia normală este exprimată de relaţia:

$$f(X;\mu,\sigma) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \cdot e^{-\frac{1}{2}\left(\frac{X-\mu}{\sigma}\right)^2} \quad (1.1)$$

în care: X - variabilă aleatorie,
dar funcţia de densitate de probabilitate depinde şi de următorii doi parametri:

μ - **valoarea medie** (teoretică) sau valoarea aşteptată a lui f
σ - **abaterea medie** (teoretică)

şi are reprezentare grafică (clopotul lui Gauss) din Figura 1.2

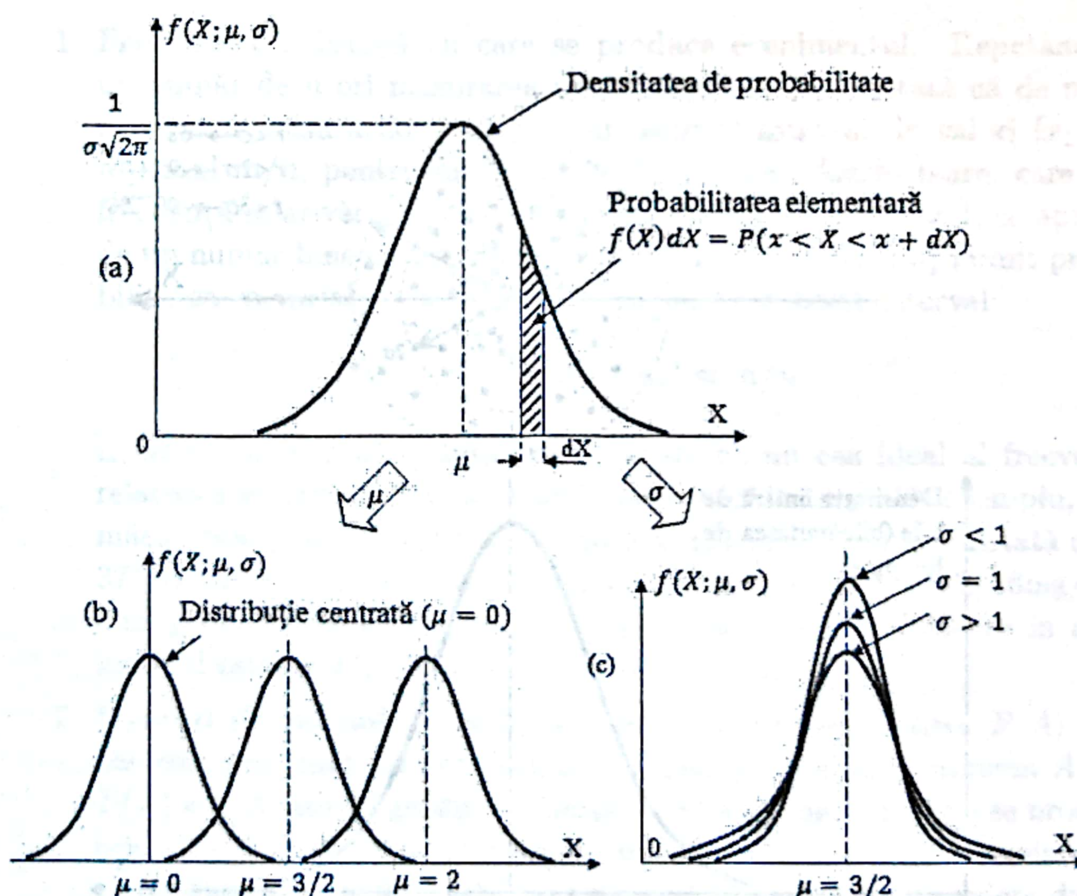


Figura 1.2 **Graficul funcţiei de densitate pe probabilitate normală (clopotul lui Gauss):** a) dependenţa de parametrul μ; b) dependenţa de parametrul σ

- **Valoarea medie (teoretică),** μ, valoarea aşteptată, media (teoretică) pentru o variabilă aleatorie continuă X, cu funcţia de densitate de probabilitate $f(X;\mu,\sigma)$ se defineşte:

$$E(X) = \int_{-\infty}^{+\infty} X \cdot f(X;\mu,\sigma)dX = \int_{-\infty}^{+\infty} X \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \cdot e^{-\frac{1}{2}(\frac{X-\mu}{\sigma})^2} dX = \mu \quad (1.2)$$

- **Varianţa/Dispersia, D(X),** unei variabile aleatorie X cu densitatea de probabilitate $f(X;\mu,\sigma)$, se defineşte:

$$D(X) = E[X - E(X)]^2 = \int_{-\infty}^{+\infty} (X-\mu)^2 \cdot f(X;\mu,\sigma)dX$$

$$= \int_{-\infty}^{+\infty} (X-\mu)^2 \cdot \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \cdot e^{-\frac{1}{2}(\frac{X-\mu}{\sigma})^2} dX = \sigma^2 \quad (1.3)$$

Rezultă că:

1. **Dispersia/Varianţa este egală cu abaterea medie pătratică**

$$D(X) = \sigma^2 \text{ , sau}$$

2. **Parametrul abaterea medie (teoretică)** σ, **este egal cu rădăcina pătrată a dispersiei/varianţei**

$$\sigma = \sqrt{D(X)}$$

1.2.1 Funcţia de repartiţie (de probabilitate)

Pe graficul funcţiei densitate de probabilitate, $f(X;\mu,\sigma)$, Figura 1.2-a, suprafaţa haşurată a dreptunghiului infinitezimal $f(X;\mu,\sigma) \cdot dX$, de înălţime $f(X;\mu,\sigma)$ şi lăţime dX, reprezintă probabilitatea elementară. Toate astfel de dreptunghiuri infinitezimale însumate (integrate), dintre două valori x_1, x_2 ale variabilei aleatorii X, vor forma o suprafaţă egală cu valoarea probabilităţii când variabila aleatorie X se situează în intervalul $[x_1, x_2]$. Evident, că toată suprafaţa de sub curba densităţii de probabilitate $f(X;\mu,\sigma)$ şi axa absciselor, pe intervalul $(-\infty, +\infty)$, este o suprafaţă de valoare unitară (probabilitatea =1, este o certitudine că valoarea mărimii măsurate se află undeva pe intervalul $(-\infty, +\infty)$).

$$\int_{-\infty}^{+\infty} f(X;\mu,\sigma)dX = \int_{-\infty}^{+\infty} \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \cdot e^{-\frac{1}{2}(\frac{X-\mu}{\sigma})^2} dX = 1 \quad (1.4)$$

- **Funcţia de repartiţie a probabilităţii** exprimă probabilitatea ca valoarea variabilei aleatorii X să fie mai mică dect x_1.

$$F(X;\mu,\sigma) = P(X < x_1) = \int_{-\infty}^{x_1} f(X;\mu,\sigma)dX = \int_{-\infty}^{x_1} \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \cdot e^{-\frac{1}{2}\left(\frac{X-\mu}{\sigma}\right)^2} dX \tag{1.5}$$

Interpretarea geometrică a valorii funcţiei repartiţie de probabilitate, pentru $X = x_1$, reprezintă suprafaţa (haşurată) de sub graficul funcţiei densitate de probabilitate $f(X;\mu,\sigma)$ şi axa absciselor de la $-\infty$ până la x_1; deci probabilitatea ca variabila aleatorie X să aibă o valoare mai mică dacât x_1 este egală cu valoarea suprafeţei cuprinse între funcţia densitate de probabilitate $f(X;\mu,\sigma)$ şi axa absciselor de la $-\infty$ până la x_1, Figura 1.3-a.

De fapt, derivata funcţiei de repartiţie de probabilitate $F(X;\mu,\sigma)$ este funcţia de densitate de probabilitate $f(X;\mu,\sigma)$ şi evident invers, integrala funcţiei de densitate de probabilitate este funcţia repartiţie de probabilitate. Această afirmaţie este reprezentată grafic în Figura 1.3

$$f(X;\mu,\sigma) = \frac{dF(X;\mu,\sigma)}{dX} \Leftrightarrow F(X;\mu,\sigma) = \int f(X;\mu,\sigma)dX$$

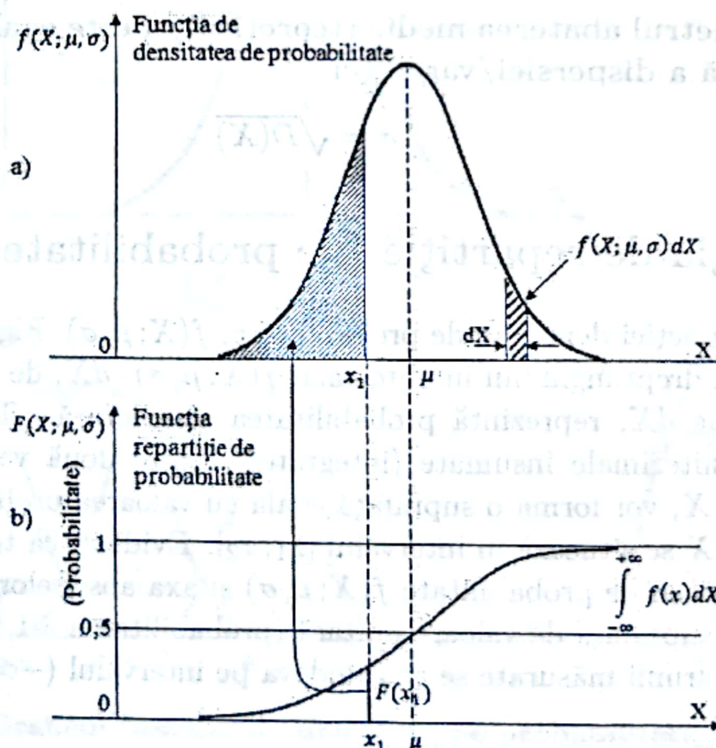


Figura 1.3 **Reprezentarea geometrică a corelaţiei dintre funcţia de densitate de probabilitate, (a) şi funcţia de repartiţie de probabilitate, (b)**

1.2.2 Calcule de probabilităţi

În practică, sunt necesare calcule pentru determinarea de valori de funcţii de repartiţie de probabilitate pentru anumite intervale, care, utilizând relaţia (1.5), se pot exprima sub următoarele două forme:

1. calcularea probabilităţii când valoarea variabilei aleatorii se situează sub o limită, $X < x_1$

$$P(X < x_1) = \int_{-\infty}^{x_1} \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \cdot e^{-\frac{1}{2}\left(\frac{X-\mu}{\sigma}\right)^2} dX$$

2. calcularea probabilităţii când valoarea variabilei aleatorii se situează în intervalul $x_1 < X < x_2$

$$P(x_1 < X < x_2) = \int_{-\infty}^{x_1} \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \cdot e^{-\frac{1}{2}\left(\frac{X-\mu}{\sigma}\right)^2} dX$$

şi acestea se reduc (pentru calcul numeric) respectiv la expresiile:

$$P(X < x_1) = \frac{1}{2} + \Phi\left(\frac{x_1 - \mu}{\sigma}\right) \tag{1.6}$$

$$P(x_1 < X < x_2) = \Phi\left(\frac{x_2 - \mu}{\sigma}\right) - \Phi\left(\frac{x_1 - \mu}{\sigma}\right) \tag{1.7}$$

unde $\Phi\left(\frac{X-\mu}{\sigma}\right)$ (sau $\Phi(t)$ când se face substituţia $\frac{X-\mu}{\sigma} = t$ pentru argument) este funcţia lui Laplace şi ale cărei valori sunt prezentate sub forma tabelară în TABELUL 1.1. În acest tabel, sunt prezentate doar valorile funcţiei pentru argumentul $t > 0$, deoarece valorile funcţiei pentru valori negative ale argumentului, $t < 0$, au următoarea proprietate: $\boldsymbol{\Phi(-t) = -\Phi(t)}$, **funcţia este simetrică**. Utilizând relaţiile (1.6) şi (1.7) se poate calcula pentru un proces de măsurare, care este probabilitatea ca valorile rezultatelor măsurărilor să fie mai mici decât o valoare x_1 sau probabilitatea ca rezultatele măsurărilor să se situeze în intervalul $[x_1, x_2]$.

Exemplul 1.2 O variabilă aleatorie cu distribuţia normală are valorile parametrilor: $\mu = 30, \sigma = 10$. Să se calculeze:

a) Probabilitatea ca variabila X să ia valori mai mici ca 5, de asemenea probabilitatea când variabila X ia valori mai mici ca -5

b) Probabilitatea ca valorile variabilei X să fie cuprinse în intervalul $X \in (15, 30)$, de asemenea probabilitatea când valorile lui X sunt cuprinse în intervalul $(10, 50)$.

TABELUL 1.1 VALORILE TABELATE PENTRU FUNCŢIA LUI LAPLACE $\Phi(t)$

Valori legate de probabilitatea $\Phi(t)$; funcţia $t = t(\mathcal{P})$ este inversa funcţiei $\mathcal{P} = 2\,\Phi(t)$

t	$\Phi(t)$	$1-2\Phi(t)$	$1-\mathcal{P}$	$t=t(\mathcal{P})$	$\mathcal{P}$
2,5	0,49379	0,01242	0,05	1,960	0,95
2,6	0,49534	0,00932	0,04	2,054	0,96
2,7	0,49653	0,00693	0,03	2,170	0,97
2,8	0,49744	0,00511	0,02	2,326	0,98
2,9	0,49813	0,00373	0,01	2,576	0,99
3,0	0,49865	0,00270	0,009	2,612	0,991
3,1	0,49903	0,00194	0,008	2,652	0,992
3,2	0,49931	0,00137	0,007	2,697	0,993
3,3	0,49952	0,00097	0,006	2,748	0,994
3,4	0,49966	0,00067	0,005	2,807	0,995
3,5	0,499767	0,000465	0,004	2,878	0,996
3,6	0,499841	0,000318	0,003	2,968	0,997
3,7	0,499892	0,000216	0,002	3,090	0,998
3,8	0,499927	0,000145	0,001	3,291	0,999
3,9	0,499952	0,000096	0,0009	3,320	0,9991
4,0	0,499968	0,000063	0,0008	3,353	0,9992
4,1	0,499979	0,000041	0,0007	3,390	0,9993
4,2	0,499987	0,000027	0,0006	3,432	0,9994
4,3	0,499991	0,000017	0,0005	3,481	0,9995
4,4	0,499995	0,000011	0,0004	3,540	0,9996
4,5	0,4999966	0,0000068	0,0003	3,615	0,9997
4,6	0,4999979	0,0000041	0,0002	3,720	0,9998
4,7	0,4999987	0,0000025	0,0001	3,891	0,9999
4,8	0,4999992	0,0000016	10^{-5}	4,417	$1-10^{-5}$
4,9	0,4999995	0,0000009	10^{-6}	4,892	$1-10^{-6}$
5,0	0,4999997	0,0000006	10^{-7}	5,327	$1-10^{-7}$

În tabelul valorilor funcţiei $\Phi(t)$ eroarea de interpolare liniară descreşte cînd valorile lui t cresc; ea nu depăşeşte: 10^{-4} în intervalul (2,5 ; 3,2); 10^{-5} în intervalul (3,2 ; 3,9); 10^{-6} în intervalul (3,9 ; 4,5); 10^{-7} în intervalul (4,5 ; 5,0).

În tabelul valorilor $t(\mathcal{P})$ nu se face interpolare.

Valorile funcţiei $\Phi(t) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}}\int_0^t e^{-t^2/2}\,dt$, $\Phi(-t) = -\Phi(t)$

t	Sutimi de t: 0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0,0	0,0000	0040	0080	0120	0160	0199	0239	0279	0319	0359
0,1	0398	0438	0478	0517	0557	0596	0636	0675	0714	0753
0,2	0793	0832	0871	0910	0948	0987	1026	1064	1103	1141
0,3	1179	1217	1255	1293	1331	1368	1406	1443	1480	1517
0,4	1554	1591	1628	1664	1700	1736	1772	1808	1844	1879
0,5	1915	1950	1985	2019	2054	2088	2123	2157	2190	2224
0,6	2257	2291	2324	2357	2389	2422	2454	2486	2517	2549
0,7	2580	2611	2642	2673	2703	2734	2764	2794	2823	2852
0,8	2881	2910	2939	2967	2995	3023	3051	3078	3106	3133
0,9	3159	3186	3212	3238	3264	3289	3315	3340	3365	3389
1,0	3413	3437	3461	3485	3508	3531	3554	3577	3599	3621
1,1	3643	3665	3686	3708	3729	3749	3770	3790	3810	3830
1,2	3849	3869	3888	3907	3925	3944	3962	3980	3997	4015
1,3	4032	4049	4066	4082	4099	4115	4131	4147	4182	4177
1,4	4192	4207	4222	4236	4251	4265	4279	4292	4306	4319
1,5	4332	4345	4357	4370	4382	4394	4406	4418	4429	4441
1,6	4452	4463	4474	4484	4495	4505	4515	4525	4535	4545
1,7	4554	4564	4573	4582	4591	4599	4608	4616	4625	4633
1,8	4641	4649	4656	4664	4671	4678	4686	4693	4699	4706
1,9	4713	4719	4726	4732	4738	4744	4750	4756	4761	4767
2,0	4772	4778	4783	4788	4793	4798	4803	4808	4812	4817
2,1	4821	4826	4830	4834	4838	4842	4846	4850	4854	4857
2,2	4861	4864	4868	4871	4875	4878	4881	4884	4887	4890
2,3	4893	4896	4898	4901	4904	4906	4909	4911	4913	4916
2,4	4918	4920	4922	4925	4927	4929	4931	4932	4934	4936

Tabelul admite o interpolare liniară cu o eroare de pînă la 10^{-4}.

Exemplu. Să se calculeze $\Phi(1{,}614)$.

Soluţie. Luăm din tabel două valori: $\Phi(1{,}61) = 0{,}4463$ şi $\Phi(1{,}62) = 0{,}4474$ cu diferenţa 0,0011 şi deducem corecţia la creşterea relativă a argumentului $(1{,}614-1{,}61)/0{,}01 = 0{,}4$:

$$\Phi(1{,}614) = \Phi(1{,}61) + 0{,}0011 \cdot 0{,}4 = 0{,}4467.$$

Continuarea tabelului pentru valorile lui $t \geq 2{,}5$

Soluţie:

a) $P(X<5)=\frac{1}{2}+\Phi\left(\frac{5-30}{10}\right)=0,5+\Phi(-2,5)=0,5-\Phi(2,5)=0,5-0,49379=$

$=0,00621 \qquad (0,62\%)$

$P(X<-5)=\frac{1}{2}+\Phi\left(\frac{-5-30}{10}\right)=0,5+\Phi(-3,5)=0,5-\Phi(-3,5)=0,5-$

$-0,499767=0,00023 \qquad (0,023\%)$

b) $P(15<X<30)=\Phi\left(\frac{30-30}{10}\right)-\Phi\left(\frac{15-30}{10}\right)=\Phi(0)-\Phi(-1,5)=\Phi(1,5)=$

$=0,43319 \qquad (43,319\%)$

$P(10<X<50)=\Phi\left(\frac{50-30}{10}\right)-\Phi\left(\frac{10-30}{10}\right)=\Phi(2)-\Phi(-2)=2\cdot\Phi(2)=$

$=2\cdot 0,47725=0,9545 \qquad (94,45\%)$

Ultimul calcul arată că probabilitatea, ca valorile variabilei aleatorii X să se afle în intervalul $(\mu-2\sigma,\mu+2\sigma)$, cu limitele $\pm 2\sigma=\pm 2\times 10$ faţă de valoarea medie $\mu=30$, este de $0,9545$ $(95,45\%)$, lungimea intervalului fiind $\Delta=4\sigma$.

Considerând intervalul valorilor variabilei X situat cu extremităţile la distanţe egale cu multiplu de k abateri medii, $\pm k\sigma$, faţă de valoarea medie teoretică μ (centrul clopotului lui Gauss) din (1.7), se obţine:

$$P(\mu-k\sigma<X<\mu+k\sigma)=\Phi\left(\frac{\mu+k\sigma-\mu}{\sigma}\right)-\Phi\left(\frac{\mu-k\sigma-\mu}{\sigma}\right)=\Phi(k)-\Phi(-k)=2\Phi(k)$$

iar, dacă în dubla inegalitate $\mu-k\sigma<X<\mu+k\sigma$ se scade μ se obţine:

$$\mu-k\sigma-\mu<X-\mu<\mu+k\sigma-\mu\Rightarrow -k\sigma<X-\mu<+k\sigma$$

expresie care se scrie sub forma (în modul) $|X-\mu|<k\sigma$, atunci utilizând acest mod de scriere relaţia (1.7) devine:

$$P(|X-\mu|<k\sigma)=2\Phi(k) \tag{1.8}$$

Pe baza relaţiei (1.8), cu datele din TABELUL1.1, se poate calcula cât trebuie să fie probabilitatea $p=2\Phi(k)$ (sau procentual $2\Phi(k)\cdot 100$) dacă valorile variabilei aleatorii X sunt situate într-un interval dat $\Delta=2k\sigma$, centrat faţă de valoarea medie teoretică (problema directă); sau, invers, fiind dată o anumită probabilitate $p=2\Phi(k)$ se poate calcula cât trebuie să fie valoarea intervalului $\Delta=2k\sigma$, centrat faţă de valoarea medie teoretică, în care sunt situate valorile variabilei aleatorii (problema inversă).

Suportul pentru determinarea unui interval când se cunoaşte probabilitatea sau pentru calculul probabilităţii când se cunoaşte un interval sunt relatiile (1.7) şi (1.8); prima relaţie pentru cazul când limitele intervalului sunt oarecare, x_1 şi x_2,

faţă de valoarea medie teoretică μ, iar a doua relaţie când limitele sunt multiplu de abaterea medie, $\pm k\sigma$, faţă de valoarea medie teoretică μ.

1. Problema directă. Pentru o variabilă X cu distribuţie normală să se determine probabilitatea când valorile variabilei aleatorii se situează într-un interval simetric $\Delta = 2k\sigma$, $k = 1, 2, 3, \ldots$ (de valoare multiplu de abatere medie), cu limitele $\pm k\sigma$ centrate faţă de valoarea medie teoretică μ (**se cunoaşte intervalul, se determină probabilitatea**).

Soluţie. Cu ajutorul relaţiei (1.8) şi a valorilor $\Phi(t)$ din Tabelului 1.1 se obţine:

$$k = 1, \qquad P(|X - \mu| < \sigma) = 2\Phi(1) = 2 \cdot 0,3413 = 0,6826 \qquad (68,26\%)$$

$$k = 2, \qquad P(|X - \mu| < 2\sigma) = 2\Phi(2) = 2 \cdot 0,4772 = 0,9544 \qquad (95,44\%)$$

$$k = 3, \qquad P(|X - \mu| < 3\sigma) = 2\Phi(3) = 2 \cdot 0,4986 = 0,9972 \qquad (99,72\%)$$

$$k = 4, \qquad P(|X - \mu| < 4\sigma) = 2\Phi(4) = 2 \cdot 0,4999 = 0,9998 \qquad (99,98\%)$$

Din punct de vedere practic se constată că o variabilă aleatorie X, cu distribuţie normală, în afara intervalului $(\mu - 3\sigma, \mu + 3\sigma)$ are foarte puţine valori, **sub 0,3%!!**, Figura 1.4. Practic, aceasta înseamnă că 99,72% din valorile variabilei aleatorii sunt situate în intervalul $(\mu - 3\sigma, \mu + 3\sigma)$, deci "cozile" funcţiei densitate de probabilitate (în afara intervalului cu lungimea de 6σ) pot să nu fie luate în calcule.

2. Problema inversă. Pentru o variabilă aleatorie X, cu distribuţie normală, să se determine limitele intervalului Δ, centrat în jurul valorii medii μ, în care variabila X are plasate valorile cu o probabilitate $p = 0,5$, adică jumătate din valorile variabilei se situează în acest interval (**se cunoaşte probabilitatea, se determină intervalul**).

Soluţie. Utilizând relaţia (1.8) se poate scrie:

$$P(|X - \mu| < k\sigma) = 2\Phi(k) = p$$

Dar, această relaţie simplă s-a obţinut din relaţia (1.7) pentru cazul când intervalul Δ are limitele la distanţe egale cu multipli de abatere medie $k\sigma$, $k = 1, 2, 3, \ldots$, faţă de valoarea medie teoretică, μ. Pentru alte limite, diferite de multipli de σ, se va utiliza argumentul $\left(\frac{X-\mu}{\sigma}\right)$ al funcţiei Φ ca în relaţia (1.7) în felul următor:

$$2\Phi\left(\frac{X-\mu}{\sigma}\right) = p \rightarrow \Phi\left(\frac{X-\mu}{\sigma}\right) = \Phi(t) = p/2$$

Ştiind valoare funcţie $\Phi(t) = p/2$, atunci din TABELUL1.1 se citeşte valoarea argumentului t al funcţiei, care este egal cu $\left(\frac{X-\mu}{\sigma}\right) = t$, apoi se deduce valoarea

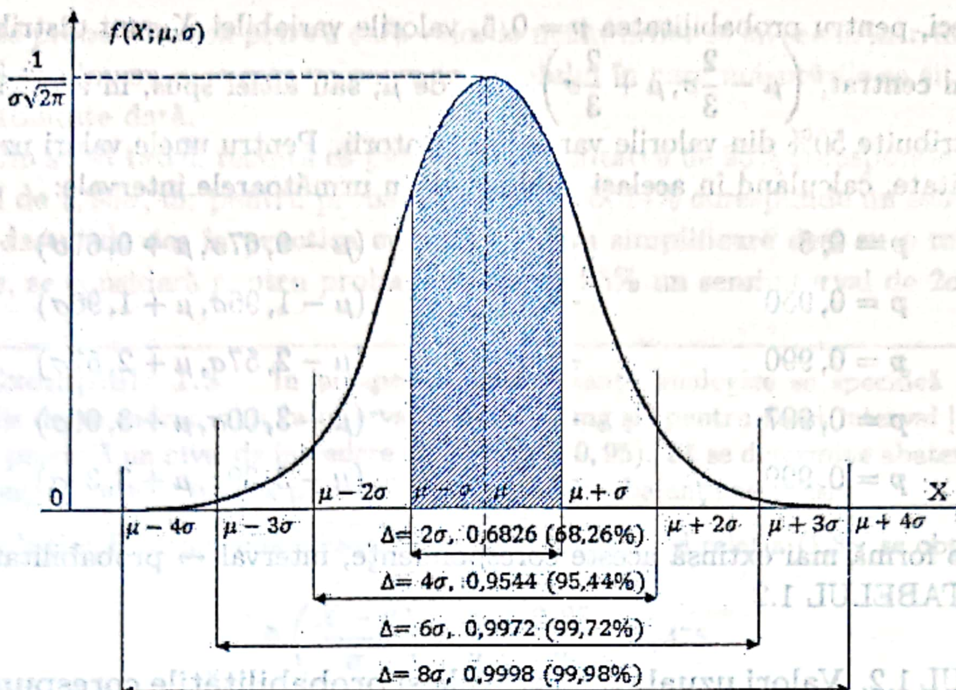


Figura 1.4 Corelaţia dintre valorile intervalelor multiplu de σ şi valorile probabilităţilor corespunzătoare acestora, reprezentată pe diagrama densităţii de probabilitate(normală).

semiintervaluilui $(X-\mu) = t\sigma$, iar extremităţile intervalului vor fi $(\mu - t\sigma, \mu + t\sigma)$. De exemplu, pentru probabiliatatea $p = 0,5$ rezultă $\Phi\left(\frac{X-\mu}{\sigma}\right) = \frac{0,5}{2} = 0,25$, valoarea de 0,25 a funcţiei Φ nu există în tabel, dar există valorile vecine ale funcţiei de $0,24867$ şi de $0,25175$, deci trebuie realizată o interpolare liniară, între aceste valori, în felul următor:

Valoare funcţie:	Argument
$\Phi\left(\frac{X-\mu}{\sigma}\right)$ $\Rightarrow$	$\frac{X-\mu}{\sigma} = t$
0,2486	0,67
0,25	0,67+y
0,2517	0,68
0,0031	0,01
0,0014	y,

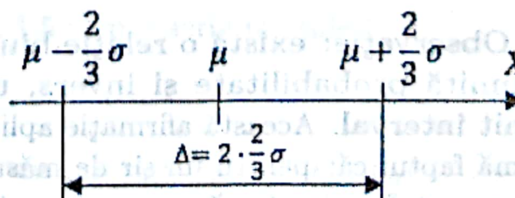
Interpolarea este:

$$y = \frac{14 \cdot 10^{-4} \cdot 10^{-2}}{31 \cdot 10^{-4}} = 0,0045$$

Rezultă semiintervalul $X - \mu$:

$$p/2 = 0,25 \rightarrow \frac{X-\mu}{\sigma} = 0,67 + 0,0045 = = 0,6745 = t$$

$$X - \mu = t \cdot \sigma = 0,6745 \cdot \sigma \approx \tfrac{2}{3} \cdot \sigma$$



Deci, pentru probabilitatea $p = 0,5$, valorile variabilei X sunt distribuite în intervalul centrat, $\left(\mu - \frac{2}{3}\sigma, \mu + \frac{2}{3}\sigma\right)$, faţă de μ, sau altfel spus, în acest interval sunt distribuite 50% din valorile variabilei aleatorii. Pentru unele valori uzuale de probabilitate, calculând în acelaşi mod, se obţin următoarele intervale:

$$p = 0,5 \quad \rightarrow \quad (\mu - 0,67\sigma, \mu + 0,67\sigma)$$
$$p = 0,950 \quad \rightarrow \quad (\mu - 1,96\sigma, \mu + 1,96\sigma)$$
$$p = 0,990 \quad \rightarrow \quad (\mu - 2,57\sigma, \mu + 2,57\sigma)$$
$$p = 0,997 \quad \rightarrow \quad (\mu - 3,00\sigma, \mu + 3,00\sigma)$$
$$p = 0,999 \quad \rightarrow \quad (\mu - 3,39\sigma, \mu + 3,39\sigma)$$

iar într-o formă mai extinsă aceste corespondenţe, interval ↔ probabilitate, sunt date în TABELUL 1.2

TABELUL 1.2. **Valori uzuale de intervale şi probabilităţile corespunzătoare ale acestora pentru distribuţia normală de probabilitate**

Valorile limită ale semiintervalelor $\pm\left(\frac{X-\mu}{\sigma}\right) = \pm t$	Intervalul Δ	Probabilitatea [%] ca valorile variabilei să se afle în: Interiorul intervalului Δ (p%)	Exteriorul intervalului Δ $(1-p)$%
± 0	0	0	100
$\pm 0,6745$	$\left(\mu - \frac{2}{3}\sigma, \mu + \frac{2}{3}\sigma\right)$	50	50
$\pm 1,00$	$(\mu - \sigma, \mu + \sigma)$	68,26	31,74
$\pm 1,35$	$(\mu - 1,35\sigma, \mu + 1,35\sigma)$	82,3	17,17
$\pm 1,50$	$(\mu - 1,50\sigma, \mu + 1,50\sigma)$	86,6	13,4
$\pm 1,65$	$(\mu - 1,65\sigma, \mu + 1,65\sigma)$	90,1	9,9
$\pm 1,96$	$(\mu - 1,96\sigma, \mu + 1,96\sigma)$	95,0	5,0
$\pm 2,00$	$(\mu - 2\sigma, \mu + 2\sigma)$	95,44	4,56
$\pm 2,50$	$(\mu - 2,5\sigma, \mu + 2,5\sigma)$	99	1
$\pm 3,00$	$(\mu - 3\sigma, \mu + 3\sigma)$	99,72	0,28
$\pm 4,00$	$(\mu - 4\sigma, \mu + 4\sigma)$	99,98	0,02

Observaţie: există o relaţie biunivocă - unui interval îi corespunde o anumită probabilitate şi invers, unei probabilităţi îi corespunde un anumit interval. Această afirmaţie aplicată practicii dintr-un laborator medical exprimă faptul că: pentru un şir de măsurări efectuate asupra unei probe de pacient, ce pot fi estimate că se supun unei distribuţii normale, se poate determina

care este probabilitatea pentru care valorile măsurărilor se situează într-un anumit interval sau invers care este valoarea intervalului în care măsurările se situează cu o probabilitate dată.

Din acest tabel, rezultă că pentru probabilitatea de 95% corespunde un semi-interval de $1,96\sigma$, iar pentru probabilitatea de 95,44% corespunde un semiinterval de 2σ, destul de des în practica curentă, pentru simplificare deşi cu o mică inexactitate, se consideră pentru probabilitatea de 95% un semiinterval de 2σ.

Exemplul 1.3 În prospectul unei balanţe analogice se specifică faptul că indicaţiile de pe cadran sunt în intervalul de $\pm 0,2$ mg şi (pentru acest interval $|X - \mu| = 0,2$ mg) prezintă un nivel de încredere de 95% ($p = 0,95$). Să se determine abaterea medie a distribuţiei normale pentru procesul de măsurare pe balanţa respectivă.

Soluţie: Pentru probabilitatea de $p = 0,95$, aplicând relaţia (1.8.) se obţine

$$\Phi\left(\frac{X-\mu}{\sigma}\right) = \frac{p}{2} = \frac{0,95}{2} = 0,475$$

iar pentru valoarea funcţiei Laplace de $\Phi = 0,475$ din TABELUL1.1 se citeşte valoarea corespunzătoare a argumentului t

$$t = \left(\frac{X-\mu}{\sigma}\right) = 1,96 \rightarrow X - \mu = 1,96\sigma$$

Deci pentru intervalul $(|X - \mu|) = 0,2$ mg $\rightarrow 0,2$ mg$= 1,96\sigma$ se obţine $\sigma = 0,2$ mg$/1,96 \approx 0,1$ mg.

1.3 ALTE TIPURI DE DISTRIBUŢII DE PROBABILITATE

Pe lângă distribuţia normală există şi alte tipuri de distribuţii de densitate de probabilitate care sunt utile în tehnica măsurării pentru determinarea incertitudinii unui proces de măsurare, în continuare se vor prezenta unele dintre acestea.

1.3.1 Distribuţia de tip dreptunghiulară

Conform reprezentării grafice din Figura 1.5 se pot scrie relaţiile

Funcţia densitate de probabilitate

$$\begin{aligned} f(x) &= 1/2a \quad \text{pentru} \quad \mu - a_- \leq X \leq \mu + a_+ \\ f(x) &= 0 \quad \text{pentru} \quad \mu - a_- > X > \mu + a_+ \end{aligned} \tag{1.9}$$

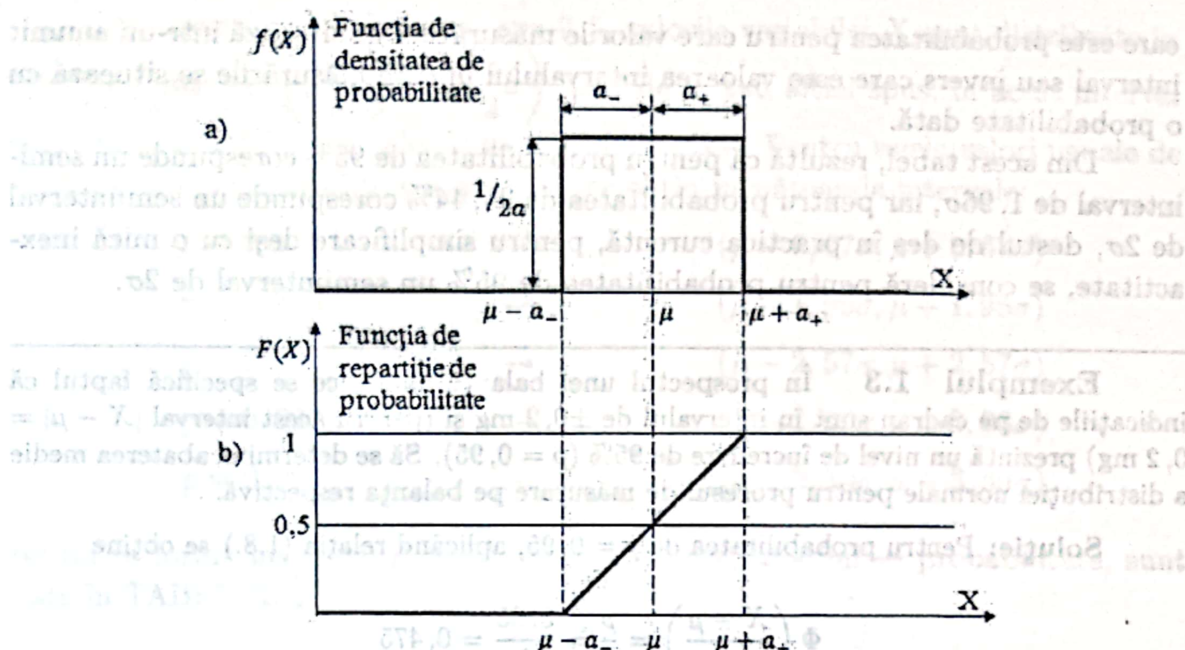


Figura 1.5 **Distribuţia de tip dreptunghiulară:** a) funcţia de densitate de probabilitate b) funcţia de repartiţie de probabilitate

Funcţia distribuţie de probabilitate

$$F(x) = \frac{1}{2}\left[1 + \frac{X-\mu}{\sigma}\right] \quad \text{pentru} \quad \mu - a_- \leq X \leq \mu + a_+$$
$$F(x) = 0 \quad \text{pentru} \quad \mu - a_- > X > \mu + a_+ \tag{1.10}$$

Informaţia pentru o repartiţie dreptunghiulară este următoarea:

- Pentru toate valorile observate ale variabilei aleatorii X probabilitatea ca acestea să se afle în intervalul $[\mu - a_-, \mu + a_+]$ este egală cu 1, iar probabilitatea ca valorile variabilei X să fie în afara intervalului este egală cu 0.

- Fiecare valoare a variabilei aleatorii X situată în interiorul intervalului este echiprobabilă, cu densitatea de probabilitate $1/2a$; ($1/2a \cdot 2a = 1$, suprafaţa dreptunghiulară este egală cu 1).

În general, pentru aplicaţiile de metrologie, intervalul considerat la o distribuţie dreptunghiulară este simetric faţă de valoarea medie, adică limitele $(\mu - a_-)$ şi $(\mu + a_+)$ sunt echidistante faţă de medie (mijlocul repartiţiei dreptunghiulare), $a_- = a_+ = a$, $\quad |X - \mu| \leq a$

Pentru o distribuţie dreptunghiulară parametrii sunt:

- Dispersia / Varianţa

$$D(X) = \frac{[(\mu + a_+) - (\mu - a_-)]^2}{12}$$

iar pentru $$a_+ = a_- = a \rightarrow D(X) = \frac{4a^2}{12} = \frac{a^2}{3} \quad (1.11)$$

- Abaterea medie (teoretică)

$$\sigma^2 = D(X) \rightarrow \sigma = \sqrt{a^2/3} = \frac{a}{\sqrt{3}} \quad (1.12)$$

Exemplul 1.4 Un etalon de lungime x este specificat prin $x \pm a$.

Rezultă:

Varianţa $D(X) = a^2/3$

Abaterea medie $\sigma = \frac{a}{\sqrt{3}}$

Exemplul 1.5 În certificatul care însoţeşte un metal, este specificată puritatea 99,99 $\pm 0,01\%$. Deoarece nu este nici o altă informaţie se consideră o distribuţie rectangulară pentru această puritate (0,9999$\pm 0,0001$); valoarea semiintervalului este $a = 0,0001 = 10^{-4}$

Rezultă:

Varianţa $D(X) = \frac{a^2}{3} = \frac{(10^{-4})^2}{3}$

Abaterea medie $\sigma = \frac{a}{\sqrt{3}} = \frac{10^{-4}}{1,73} = 0,000058$

Exemplul 1.6 Cu o balanţă digitală, care are o acurateţe pe display de două zecimale, se determină o masă de 100,28 g. Pentru balanţa cu citire digitală se consideră o distribuţie rectangulară care are semiintervalul a egal cu 1/2 din ponderea zecimală a ultimei cifre indicate pe display; în acest caz, ultima cifră indicată este 8 şi are ponderea 10^{-2}.

$100,28 = 1 \cdot 10^2 + 0 \cdot 101 + 0 \cdot 10^0 + 2 \cdot 10^{-1} + 8 \cdot 10^{-2}$, deci $a = 1/2 \cdot 10^{-2} = 0,5 \cdot 10^{-2} = 5 \cdot 10^{-3}$

Rezultă:

Varianţa $D(X) = \frac{a^2}{3} = \frac{(5 \cdot 10^{-3})^2}{3} = 8,33 \cdot 10^{-6}$

Abaterea medie $\sigma = \sqrt{D(X)} = a/\sqrt{3} = \frac{5 \cdot 10^{-3}}{1,73} = 0,0029$g

---

- Modul de formare a cifrelor la un instrument digital este reprezentat în Figura 1.6:

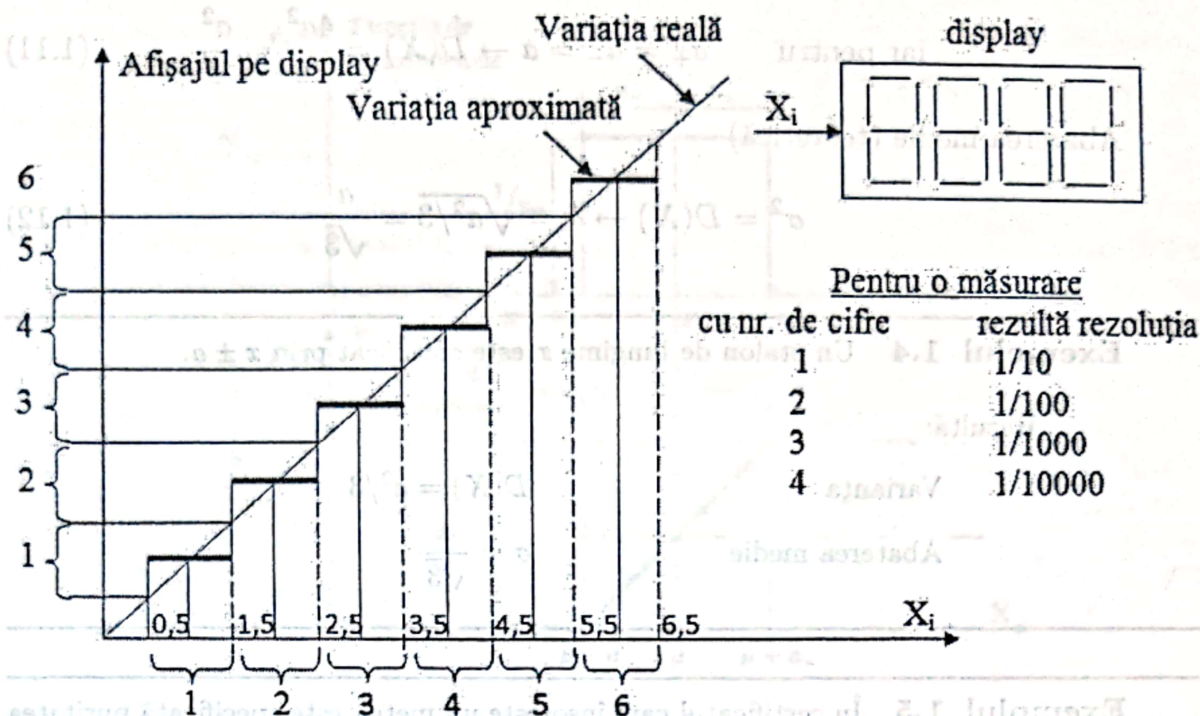


Figura 1.6 **Explicaţie pentru modul de formare a digiţilor pentru o afişare pe un display digital**

Un instrument digital poate indica pe display valori măsurate cu o acurateţe egală cu ponderea zecimală a ultimei cifre. De exemplu, pentru display-ul din figură, cu patru digiţi, se pot afişa numere de la 0-9999, din unitate în unitate (ponderea ultimului digit este $10^0 = 1$), nu se poate afişa un număr cu zecimale cum ar fi 2,8. Pentru valoarea măsurată de 2,8 instrumentul va afişa numărul 3, dar pentru toate valorile cuprinse în intervalul (2,5 3,5] se va afişa numarul 3 şi la fel pentru toate valorile măsurate în intervalul (3,5 4,5] se va afişa numărul 4. Rezultă că un digit din ultima poziţie de pe display, care are ponderea $10^0 = 1$, acoperă un interval de $\pm 0,5$ $\left(0,5 = \frac{1}{2} \times 10^0\right)$ pentru valorile mărimii măsurabile. Dacă pe un display ultima cifră afişată ar fi zecimi (10^{-1}) atunci această cifră afişată acoperă un interval de $\pm 0,05$ $\left(1/2 \times 10^{-1} = \frac{1}{2} \times \frac{1}{10} = 0,05\right)$ pentru valorile mărimii măsurate. Aceasta explică de ce se consideră, pentru mărimile măsurate cu un instrument digital, o distribuţie rectangulară cu semiintervalul egal cu 1/2 din pondera zecimală a ultimei poziţii de pe display.

1.3.2 Distribuţia de tip trapezoidală

Pentru distribuţia dreptunghiulară, de multe ori, este mai realist să se considere că valorile variabilei aleatorii X sunt mai puţin probabile să fie situate când se apropie de limitele intervalului, $\mu - a_-$ şi $\mu + a_+$ decât valorile situate spre punctul de mijloc (media teoretică μ). În această abordare este rezonabil ca distribuţia dreptunghiulară simetrică pentru funcţia de densitate de probabilitate să fie înlocuită cu o distribuţie de tip trapezoidală, Figura 1.7. Se consideră pentru acest trapez baza mare $\mu + a_+ - (\mu - a_-) = 2a$ şi baza mică $2a\beta$ unde $0 \le \beta \le 1$; din distribuţia de tip trapezoidală când valoarea parametrului este $\beta = 1$ se obţine o distribuţie dreptunghiulară, iar când $\beta = 0$ se obţine o distribuţie triunghiulară. Pentru distribuţia trapezoidală cei doi parametrii, considerând $a_- = a_+ = a$, sunt:

- Dispersia/Varianţa $$D(X) = \frac{a^2(1+\beta^2)}{6} \qquad (1.13)$$

- Abaterea medie $$\sigma = a\sqrt{\frac{1+\beta^2}{6}} \qquad (1.14)$$

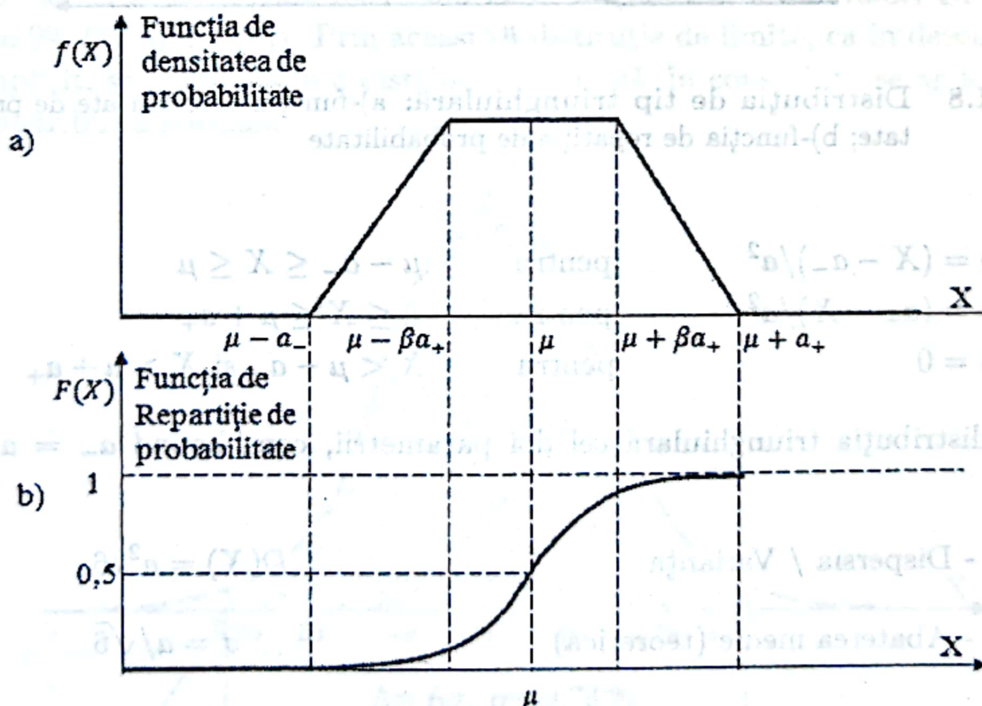


Figura 1.7 **Distribuţia de tip trapezoidală:** a)-funcţia de densitate de probabilitate; b)-funcţia de repartiţie de probabilitate

1.3.3 Distribuţia de tip triunghiulară

Distribuţia de tip triunghiulară, Figura 1.8, se obţine din cea de tip trapezoidală când coeficientul $\beta = 0$. Funcţia densitate de probabilitate

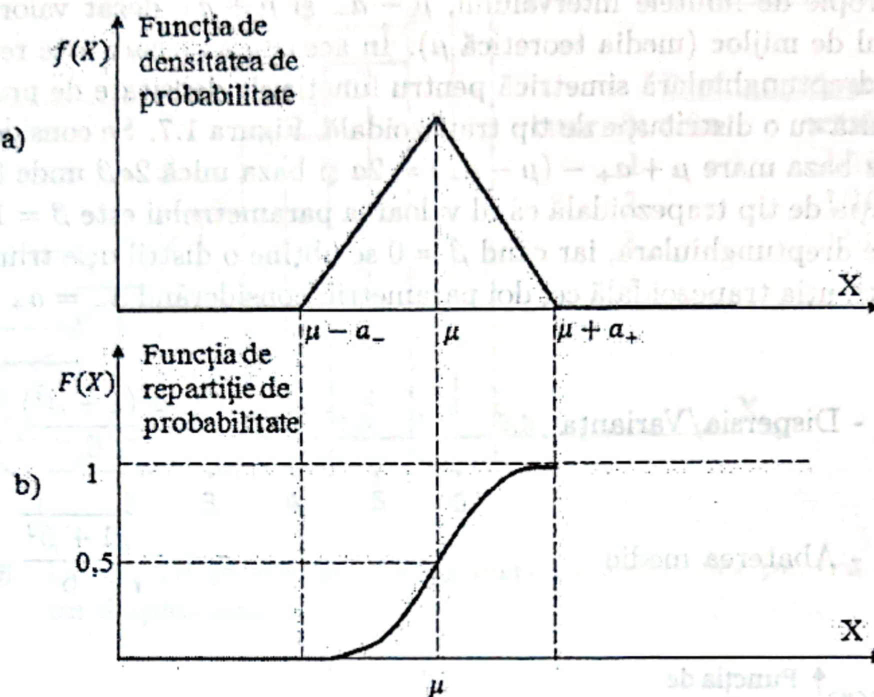


Figura 1.8 **Distribuţia de tip triunghiulară:** a)-funcţia de densitate de probabilitate; b)-funcţia de repatiţie de probabilitate

$$
\begin{aligned}
&f(X) = (X - a_-)/a^2 && \text{pentru} && \mu - a_- \leq X \leq \mu \\
&f(X) = (a_+ - X)/a^2 && \text{pentru} && \mu \leq X \leq \mu + a_+ \\
&f(X) = 0 && \text{pentru} && X < \mu - a_- \text{ şi } X > \mu + a_+
\end{aligned}
\tag{1.15}
$$

Pentru distribuţia triunghiulară cei doi parametrii, considerând $a_- = a_+ = a$, sunt:

- Dispersia / Varianţa $\qquad D(X) = a^2/6 \qquad (1.16)$

- Abaterea medie (teoretică) $\qquad \sigma = a/\sqrt{6} \qquad (1.17)$

Exemplul 1.7 Pentru un vas de laborator, din sticlă, fabricantul a marcat volumul nominal 100 mL ± 0,1 mL (la temperatura de 20°C). Să se determine abaterea medie (teoretică) pentru acest vas.

Soluţie. Nefiind nici o altă informaţie se consideră o distribuţie de tip triunghiulară,

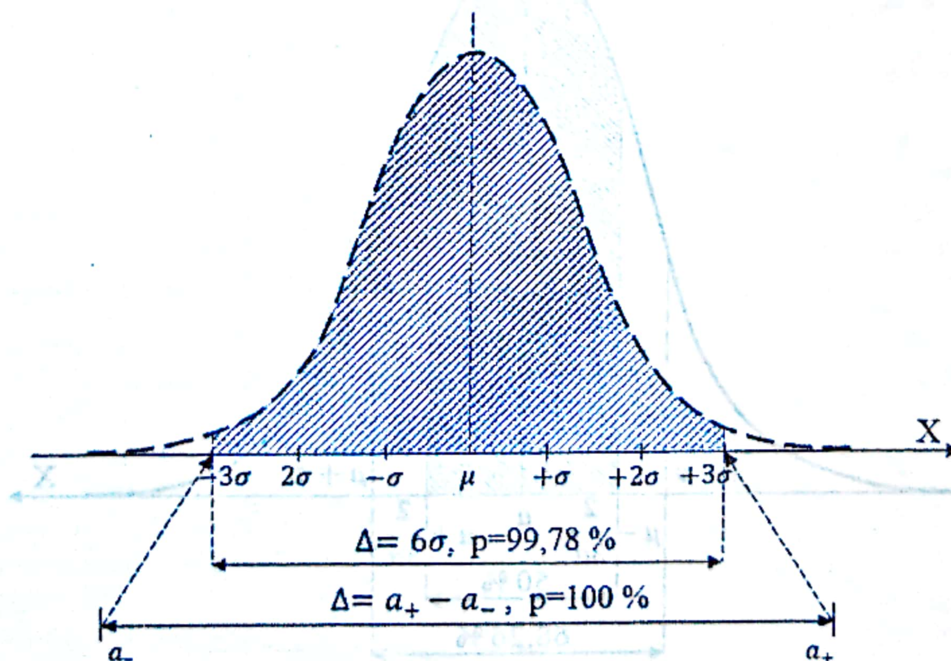
care este mai rezonabilă decât una dreptunghiulară; această afirmaţie se bazează pe faptul că într-un proces de producţie valoarea nominală pentru produs este mai probabilă decât extremele. Pentru semiintervalul $a = 0,1$ mL aplicând relaţia (1.17) se obţine:

$$\sigma = \frac{0,1 \text{ mL}}{\sqrt{6}}$$

1.3.4 Distribuţia de tip aproximativ normală

Există cazuri când informaţia cunoscută se enunţa în felul următor: "distribuţia valorilor variabilei aleatorii se situează între o limită inferioară a_- şi o limită superioară a_+", fără a avea nici o informaţie despre tipul de funcţie de densitate de probabilitate în acest interval (a_-, a_+). Se poate admite atunci că distribuţia se apropie de una normală - "aproximativ normală".

Pentru distribuţia normală, 99,73% din valorile variabilei aleatorii sunt situate în intervalul $(\mu-3\sigma, \mu+3\sigma)$, în afara intervalului de 6σ plasându-se doar $\approx 0,3\%$ ("cozile") din valorile variabilei. Bazat pe această constatare, pentru distribuţia care are 100% din valori în intervalul (a_-, a_+), se poate considera echivalenţa: limita inferioară a_- corespunde lui $\mu - 3\sigma$ şi limita superioară a_+ corespunde lui $\mu + 3\sigma$; adică se substituie intervalul care conţine 100% din valori cu unul care conţine $99,73\%$ din valori. Prin această substituţie de limite, ca în desenul de mai jos, implicit, se consideră şi o distribuţie normală, în consecinţă se aplică relaţiile de la distribuţia normală.



Se obţin astfel, pentru distribuţia aproximativ normală, parametrii $\dfrac{(a_+ - a_-)}{2} = a$:

- Dispersia / Varianţa $$D(X) = a^2/9 \qquad (1.18)$$

- Abaterea medie (teoretică) $\sigma = a/\sqrt{9} = a/3$ (1.19)

Exemplul 1.8 Pe baza informaţiilor disponibile este posibil să se afirme "există o şansă din două (deci o probabilitate $p = \frac{1}{2} = 0,5$) ca valoarea unei variabile aleatorii să se afle în intervalul (a_-, a_+)". Să se determine abatere medie σ pentru această variabilă aleatorie.

Soluţie. În lipsă de altă informaţie se consideră pentru această variabilă o distribuţie aproximativ normală cu valoarea medie μ în mijlocul intervalului iar lungimea semiintervalului este $a = (a_+ - a_-)/2$.

Pe baza relaţiei (1.8), calculele sunt identice ca în - problema inversă - de pe pagina 18, se obţine $2\Phi\left(\frac{X-\mu}{\sigma}\right) = 0,5 \rightarrow \Phi\left(\frac{X-\mu}{\sigma}\right) = \frac{0,5}{2} = 0,25$ iar din Tabelul 1.1 pentru valoarea de 0,25 pentru funcţie se citeşte valoarea argumentului $t = \frac{X-\mu}{\sigma} = 0,675 = 2/3 \rightarrow$ deci $X - \mu = \frac{2}{3}\sigma$ este semiintervalul în care sunt plasate jumătate din valorile variabilei.

$$|X - \mu| = a \quad \rightarrow \quad a = \frac{2}{3}\sigma \rightarrow \sigma = \frac{3}{2}a = 1,5a$$

cu reprezentarea din Figura 1.9

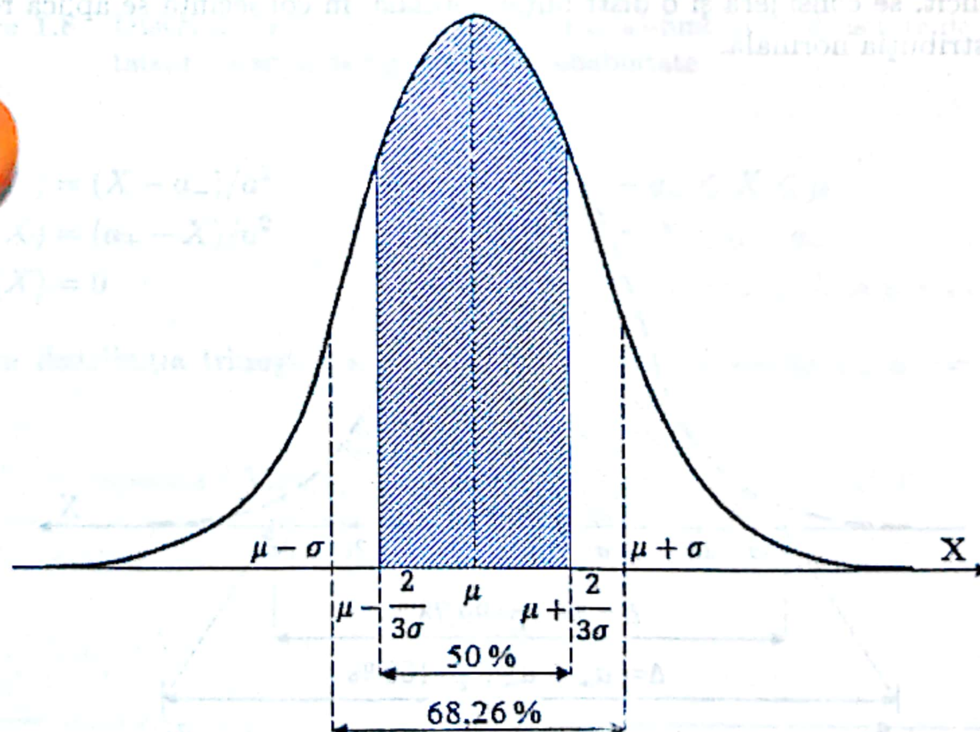


Figura 1.9 Explicativă pentru Exemplul 1.8

TABELUL 1.3. PARAMETRII CARACTERISTICI PENTRU TIPURILE DE DISTRIBUŢII UZUALE.

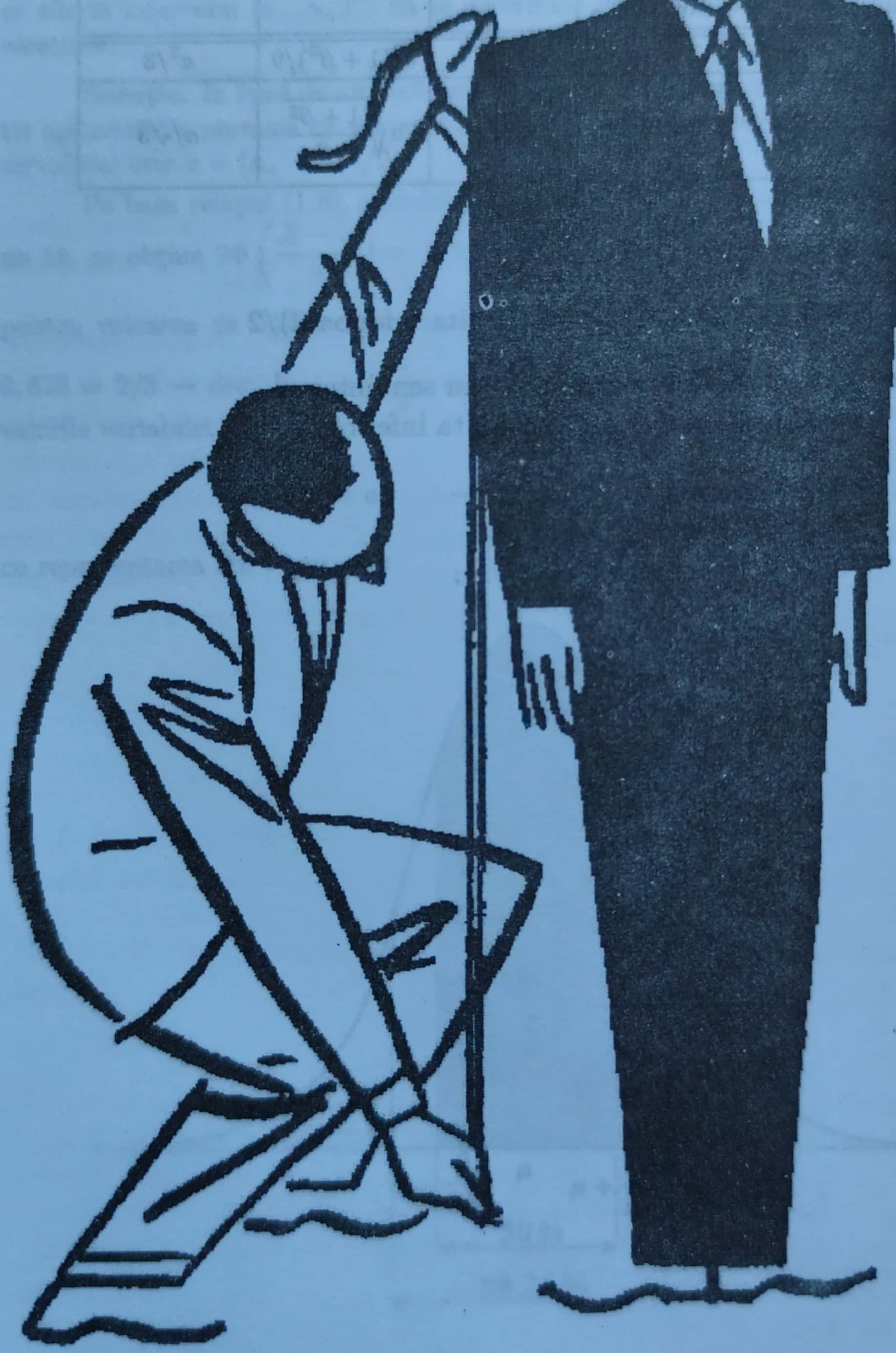
Tip de Distrib. / Parametru	Normală	"Aproximativ normală"*	Triunghiulară*	Trapezoidală*	Dreptunghiulară*
Dispersia	σ^2	$a^2/9$	$a^2/6$	$a^2(1+\beta^2)/9$	$a^2/3$
Abaterea medie (teoretică)	σ	$a/\sqrt{9}$	$a/\sqrt{6}$	$a\sqrt{\frac{1+\beta^2}{6}}$	$a/\sqrt{3}$

* Valoarea medie teoretică se calculează cu

$$\mu = (\text{Limita superioară} + \text{Limita inferioară})/2$$

* Pentru intervalul considerat s-a calculat un semiinterval

$$a = (\text{Limita superioară} - \text{Limita inferioară})/2$$



Capitolul 2

MĂSURARE, STATISTICĂ, VALIDARE

Exemplul 2.1 În urma măsurării repetate a unei probe de glucoză în ser s-a obţinut următorul şir de valori:

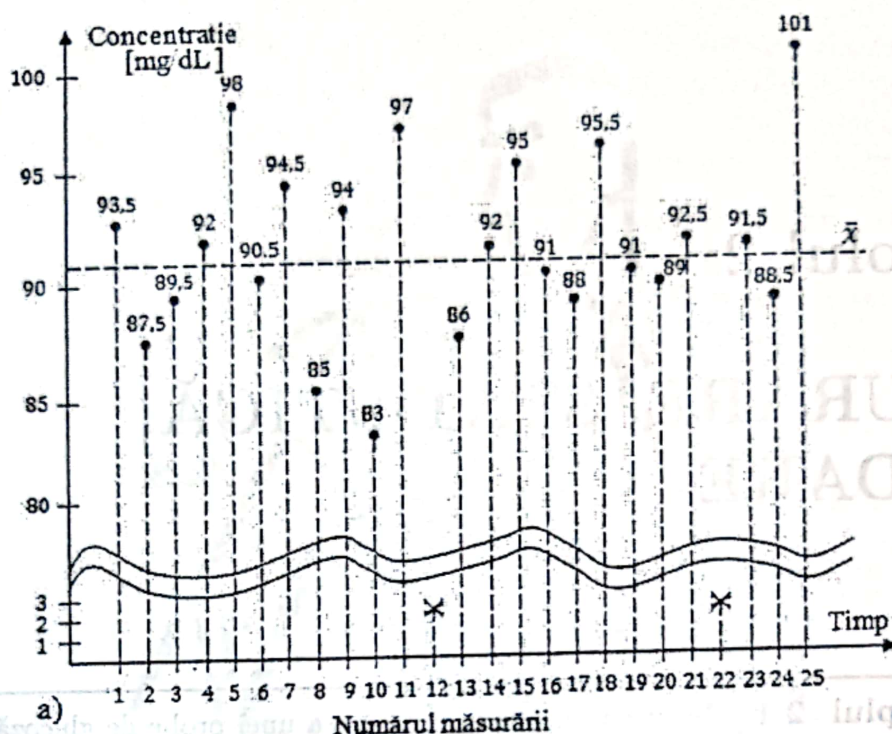
Numărul măsurării	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Valoarea măsurată mg/dL	93.5	87,5	89,5	92	98	90,5	94,5	85	94	83

11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
97	119	86	92	95	91	88	95,5	91	89	9,5	69	91,5	88,5	101

Să se reprezinte grafic rezultatul măsurărilor. O reprezentare grafică poate fi mult mai explicativă şi intuitivă pentru a analiza decât un şir de valori. Pot fi realizate următoarele două forme de reprezentare grafică pentru şirul de valori obţinute:

a) **Reprezentarea în timp**, Figura 2.1-a. Axa ordonatelor corespunde mărimii măsurate, valorile măsurate [mg/dL], iar axa absciselor corespunde numărului măsurării efectuate - succesiunea în timp.

b) **Reprezentarea în domeniul frecvenţă**, Figura 2.1-b. Axa absciselor corespunde mărimii măsurate [concentraţie în mg/dL], pe care s-au marcat intervale unitare (fiecare interval unitar este egal cu 3 unitaţi de concentraţie), iar ordonata corespunde numărului de măsurări încadrat într-un interval unitar, adică o reprezentare sub formă de histogramă. Numărul de măsurări încadrate într-un interval unitar (aceste numere pe grafic sunt 1,2,5,7,5,2,1) este în fond o măsură a frecvenţei pe unitate (vezi pagina 5), deci reprezentarea, curba trasată cu linie întreruptă, este densitatea de probabililitate în funcţie de mărimea (aleatorie) măsurată, reprezentare similară cu cea din Figura 1.2.



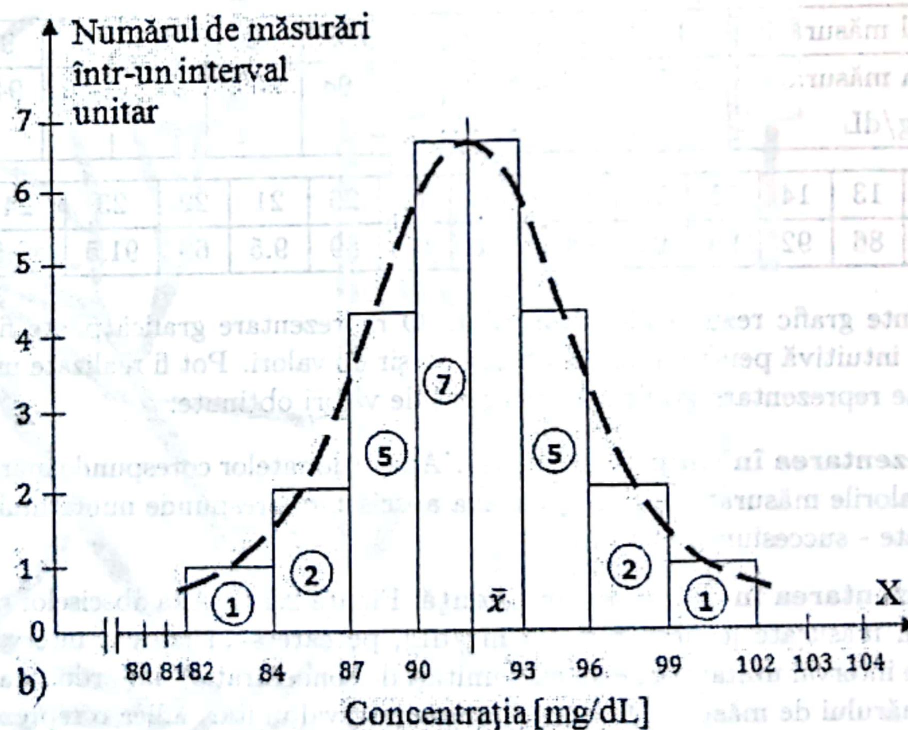


Figura 2.1 Forme de reprezentare a unui şir de măsurări: a) reprezentarea în timp; b) reprezentarea în domeniul frecvenţă

2.1 MĂSURARE

• **Măsurarea** este un ansamblu de operaţii prin care se determină valoarea unei mărimi. Se impune ca măsurarea să înceapă cu definirea corectă a măsurandului şi a metodei de măsurat, concretizată printr-o procedură de măsurare.

• **Mărime (măsurabilă)** este un atribut al unui fenomen, al unui corp sau al unei substanţe, care este susceptibil a fi diferenţiat calitativ şi determinat cantitativ. O mărime când este supusă măsurării, în general, este referită ca **măsurand.**

• Măsurarea ca fundamentare stiinţifică, se bazeaze un principiu de măsurare (de exemplu, efectul Doppler ca bază pentru măsurarea vitezei, efectul termoelectric ca bază pentru măsurarea temperaturii, efectul Josephson ca bază pentru măsurarea tensiunii electrice, spectroscopia de absorbţie atomică - interacţiunea materiei cu diferite frecvenţe ale spectrului electromagnetic - ca bază în determinarea concentraţiilor componentelor din soluţii etc).

• **Metoda de măsurare** constă în succesiunea logică a operaţiilor, descrise în mod generic, care se aplică în efectuarea măsurărilor (metoda substituţiei, metoda diferenţială, metoda de zero etc).

• **Procedura de măsurare** este o descriere detaliată a fazelor prin care metoda de măsurare este implementată pentru o măsurare. Această descriere trebuie să fie suficient de detaliată astfel încât un operator să poată efectua măsurarea fără a avea nevoie de informaţii suplimentare. Procedura de măsurare, prezentată sub forma unui document, este, uneori, referită chiar ca metodă de măsurare (incorect!).

• **Rezultat al măsurarii**, valoare atribuită unui măsurand obţinută prin măsurare. Această valoare, care este expresia cantitativă a măsurandului, se exprimă în general sub forma unei unităţi de măsură înmulţită cu un număr.

- lungimea unei bare: 3,48 m (sau 348 cm, $3,48 \cdot 10^6 \mu$m, $3,43 \cdot 10^9$ nm)
- masa unui corp: 0,453 kg (sau 453 g, $453 \cdot 10^3$ mg, $453 \cdot 10^6 \mu$g)
- cantitatea de substanţă, de exemplu o probă de apă (H2O): 0,053 mol (sau 12 mmol)
- concentraţia unui analit: 93 mg/dL ; 5,16 mmol/dL. Conversii utile, din sistemul vechi - mg/dL - în sistemul nou, Sistemul Internaţional (S.I.) - mmol/dL - pot fi găsite în [20]. SI este sistemul metric care a fost acceptat în majoritatea ţărilor pentru utilizare în ştiinţă, medicină, industrie şi comerţ. SI este un sistem coerent bazat pe şapte mărimi de bază: lungime (metru, m); masă (kilogram, kg); timp (secunda, s); curent electric (amper, A); temperatură (grad Kelvin, K); Intensitate luminoasă (candela, cd); cantitatea de substanţă (molul, mol).

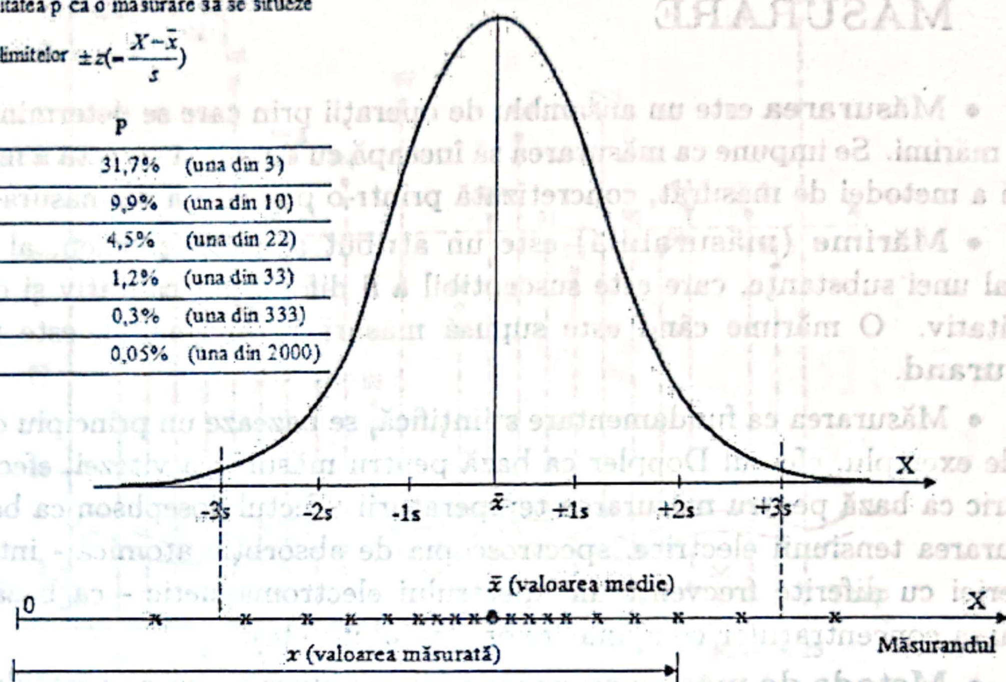


Figura 2.2 **Distribuţia valorilor într-un şir de măsurări efectuate asupra unui măsurand (în condiţii identice de măsurare)**

Efectuând un şir de măsurări/observaţii asupra măsurandului/probei, în aceleaşi condiţii de măsurare, se constată că valorile obţinute sunt grupate în jurul unei valori medii $\bar{x}$ şi distribuţia acestora, pentru un număr mare de măsurări, se supune distribuţiei normale, Figura 2.2. Se pune întrebarea, care este de fapt valoarea x a măsurandului ? Pentru a caracteriza cea mai buna estimaţie a măsurandului şirul de valori obţinut prin măsurare se prelucreză statistic.

2.2 STATISTICĂ

Printr-o prelucare statistică, asupra unei populaţii sau asupra şirului de rezultate ale unor măsurări succesive, se obţine un număr sau câteva numere (o **mărime stastistică** sau câteva) care exprimă concentrat o informaţie şi care constituie un instrument în clarificarea caracterizării acelei populaţii sau acelor măsurări. Dar, când statistica nu este înţeleasă sau nu este evidenţiată finalitatea prelucrării statistice se obţine efectul invers, crează confuzii în loc de clarificări. *Prin prelucrare statistică se poate evidenţia calitatea testelor intr-un laborator medical.*

Pentru procesarea unui şir de valori/date, obţinut în urma măsurării repetate a unui măsurand, se introduc următoarele mărimi de calcul (statistici).

• **Media aritmetică** - câtul între suma tuturor valorilor x_i ale şirurului, obţinute prin măsurare şi numărul total de măsurări n din şir.

$$\overline{x} = \frac{\sum_{i=1}^{n} x_i}{n} \tag{2.1}$$

Media aritmetică este referită şi ca **media experimentală**, deoarece se referă la rezultatul unui calcul asupra datelor (şir de date) experimentale obţinute pe un eşantion. Media experimatală a unui eşantion, preluat dintr-o populaţie, este o estimare fără deplasare a mediei teoretice μ (vezi relaţia 1.2) a acelei populaţii; media experimentală se consideră cea mai bună estimare a mediei teoretice, pe baza datelor de care se dispune. Media aritmetică exprimă valoarea spre care se "**centrează**" datele din şirul de valori obţinut în urma măsurărilor.

O altă mărime de calcul utilizată, tot în acest sens de centrare, este **valoarea mediană** care exprimă acea valoare din şirul de măsurări în raport cu care jumătate dintre valorile din şir sunt mai mari decât aceasta şi jumătate dintre valori sunt mai mici. Deoarece valoarea mediană nu este influenţată, precum este media aritmetică, de mărimea valorilor extreme din şirul de măsurări, rezultă că aceasta constituie o măsură mai robustă a tendinţei de centrare decât exprimarea prin media aritmetică.

• **Abaterea standard experimentală**, pentru un şir de n măsurări ale aceluiaşi măsurand X, este mărimea notată prin $s(x)$, **care caracterizează dispersia/variabilitatea rezultatelor** şi se calculează cu relaţia:

$$s(x) = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n} (x_i - \overline{x})^2}{n-1}} \tag{2.2}$$

în care x_i este rezultatul celei de a i-a măsurări din şir, iar $\overline{x}$ este media aritmetică a celor n rezultate considerate (calculată cu relaţia 2.1). (Pătratele diferenţelor $(x_i - \overline{x})^2$ dintre fiecare valoare măsurată şi valoarea medie se însumează, se împarte la (n-1), iar din numărul rezultat se extrage rădăcina pătrată - valoarea obţinută este abaterea standard experimentală). Abaterea standard experimentală are aceaşi dimensiune ca şi mărimea măsurată. Dacă pentru un proces de măsurare concret se consideră şirul de n valori obţinute ale lui X, ca un eşantion al unei distribuţii normale de probabilitate, atunci $\overline{x}$ este un estimator fără deplasare al mediei teoretice μ (relaţia 1.2), iar $s(x)^2$ este un estimator fără deplasare al varianţei $D(x) = \sigma^2$, adică un estimator de variabilitate/dispersie. Abaterea standard experimentală este rădăcina pătrată pozitivă din dispersie/varianţă (relaţia 1.3). Foarte frecvent, abaterea standard experimantală este referită ca deviaţia standard, SD (Standard Deviation).

• **Abaterea standard relativă**, RSD (Relative Standard Deviation) este definită ca raportul dintre abaterea standard experimentală $s(x)$, relaţia (2.2), şi

media aritmetică $\overline{x}$, relaţia (2.1)

$$RSD = \frac{s(x)}{\overline{x}} = \frac{1}{\overline{x}} \cdot \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n}(x_i - \overline{x})^2}{n-1}} \tag{2.3}$$

Mai frecvent, este utilizat **Coeficientul de Variaţie, CV,** care este abaterea standard relativă dar exprimată procentual

$$CV\% = \frac{s(x)}{\overline{x}} \cdot 100 \tag{2.4}$$

şi care, la fel ca abaterea standard experimentală sau cea relativă, este un indicator de variabilitate pentru procesul de măsurare (este adimensional). CV exprimă cât este abaterea standard experimentală, ca procent, din valoarea medie.

- **Abaterea standard experimentală a mediei** se calculează cu relaţia

$$s(\overline{x}) = \frac{s(x)}{\sqrt{n}} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n}(x_i - \overline{x})^2}{n(n-1)}} \tag{2.5}$$

Această mărime de calcul exprimă cantitativ cât de bine media artitmetică experimentală $\overline{x}$, relaţia (2.1), estimează media teoretică μ (relaţia 1.2). Pentru a se garanta o estimaţie suficient de bună a mediei teoretice prin media experimentală trebuie ca numărul de observaţii/măsurări să fie suficient de mare ($n > 30$) pentru variabila aleatorie X. Estimarea mediei teoretice prin media aritmetică este dată de relaţia:

$$\mu = \overline{x} \pm t \cdot \frac{s(x)}{\sqrt{n}} \tag{2.6}$$

unde t este un parametru obţinut din distribuţia de probabilitate Student (TABELUL 3.4), parametru care este dependent atât de numărul de grade de libertate ν (vezi relaţia 3.16) cât şi de nivelul de încredere (probabilitatea p). Din această relaţie se confirmă afirmaţia anterioară, că numai pentru un număr foarte mare de măsurări ($n \to \infty$) ale probei, media aritmetică $\overline{x}$ devine egală cu media teoretică μ.

Graficul distribuţiei de probabilitate de tip Student, Figura 2.3, este similar cu cel al distribuţiei normale, Figura 1.3-a, dar mai plat şi cu mai multe valori în "cozi". Pentru un număr relativ mic de măsurări ale unei probe distribuţia Student este un model matematic mai potrivit pentru procesul de măsurare, când numărul de măsurări creşte ($n \to \infty$) această distribuţie tinde să se suprapună peste distribuţia normală.

Pentru procesul de măsurare din Exemplul 2.1 valorile mărimilor statistice introduse mai sus sunt: $\overline{x} = 2105,5/23 = 91,54$ mg/dL; SD=$\sqrt{405,2948/(23-1)}$ = 4,29 mg/dL; CV = (4,29/91,54)·100 = 4,6%; μ= 91,54 ± 2,07(4,29/$\sqrt{23}$) =

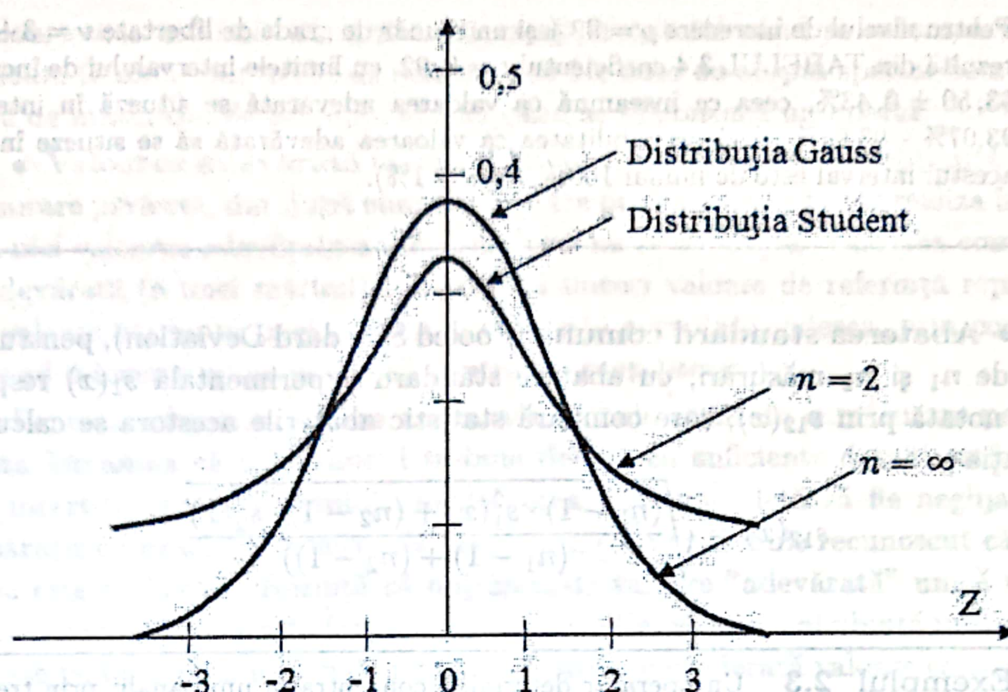


Figura 2.3 Distribuţia de tip Student pentru $n = 2$ şi $n = \infty$ (când devine identică cu distribuţia normală)

91,54 ± 1,85 mg/dL (pentru $n = 23$ şi probabilitatea de 95% din Tabelul 3.4 rezultă t = 2,07)

Exemplul 2.2 Concentraţia (exprimată procentual) unui analit într-o soluţie este determinată prin trei măsurari consecutive şi rezultă şirul de valori: 93,50%; 93,58% şi 93,58%. Să se determine intervalul (de încredere) în care se situează valoarea mediei teoretice când se consideră nivelul de încredere (probabilitate p) de: (a) 95%, (b) 99%.

Soluţie: Se calculează media experimentală şi abaterea medie experimentală (ambele au dimensiunea de concentraţie):

$$\overline{x} = \frac{93,50 + 93,58 + 93,43}{3} = 93,50\%$$

$$s(x) = \sqrt{\frac{0 + 0,08^2 + (-0,07)^2}{3 - 1}} = \sqrt{\frac{0,0113}{2}} = 0,075\%$$

a) Pentru nivelul de încredere $p = 95\%$ şi un număr de grade de libertate $\nu = 3 - 1 = 2$ rezultă din TABELUL 3.4 coeficientul $t = 4,303$, deci limitele intervalului de încredere, conform relaţiei (2.6), sunt

$$\mu = \overline{x} \pm t \cdot \frac{s(x)}{\sqrt{n}} = 93,50 \pm 4,303 \cdot \frac{0,075}{\sqrt{3}} = (93,50 \pm 0,19)\%$$

ceea ce înseamnă că valoarea adevărată se situează cu probabillitate de 95% în intervalul 93,31% - 93,69%.

b) Pentru nivelul de încredere $p = 99\%$ şi un număr de grade de libertate $\nu = 3 - 1 = 2$ rezultă din TABELUL 3.4 coeficientul $t = 9,92$, cu limitele intervalului de încredere $93,50 \pm 0,43\%$, ceea ce înseamnă că valoarea adevărată se situeză în intervalul 93,07% - 93,93% (deci probabilitatea ca valoarea adevărată să se situeze în afara acestui interval este de numai $100\% - 9\% = 1\%$).

• **Abaterea standard comună** (Pooled Standard Deviation), pentru două şiruri de n_1 şi n_2 măsurări, cu abatere standard experimentală $s_1(x)$ respectiv $s_2(x)$, notată prin $s_{12}(x)$, care compară statistic abaterile acestora se calculează cu relaţia

$$s_{12}(x) = \sqrt{\frac{(n_1 - 1) \cdot s_1^2(x) + (n_2 - 1) \cdot s_2^2(x)}{(n_1 - 1) + (n_2 - 1))}} \tag{2.7}$$

Exemplul 2.3 Un operator determină concentraţia unui analit prin trei serii de măsurări, dar pentru fiecare serie utilizează un reactiv dintr-un alt lot (I , II, III), rezultatele sunt prezentate în următorul tabel:

Lot reactiv	I	II	III
Număr de măsurări, n	10	8	9
Numărul de grade de libertate, ($\nu = n - 1$)	9	7	8
Media aritmetică, ($\overline{x}$)	3,3740	3,1913	3,6000
Abaterea standard experimentală, $s_i(x)$	0,3295	0,8060	0,3766
RSD, ($s(x)/\overline{x}$)	0,0977	0,2526	0,1046

Rezultă abaterea standard comună

$$s_{1,2,3}(x) = \sqrt{\frac{(n_1 - 1)\left(\frac{s_1(x)}{\overline{x}_1}\right)^2 + (n_2 - 1)\left(\frac{s_2(x)}{\overline{x}_2}\right)^2 + (n_3 - 1)\left(\frac{s_3(x)}{\overline{x}_3}\right)^2}{(n_1 - 1) + (n_2 - 1) + (n_3 - 1)}} = 0,3809$$

2.3 EXACTITATE ŞI PRECIZIE

Între valoarea rezultată x a măsurării unui măsurand X (cu x literă mică se notează o valoare particulară a unei variabile X) şi valoarea a (convenţional adevărată) a măsurandului, există o diferenţă

$$\epsilon = x - a \tag{2.8}$$

referită ca **eroare de măsurare**. *Orice măsurare este însoţită de eroare!* Eroarea de măsurare, ϵ, este de obicei necunoscută, deoarece nu se cunoaşte însăşi adevăra-

ta valoare a, a mărimii măsurate, cu excepţia cazului când se măsoară mărimi cunoscute (etalon), iar astfel de măsurări se fac doar cu scopul special de a studia erorile de măsurare, de exemplu atunci când se etalonează un aparat.

- **Valoarea adevărată** (a unei mărimi) - valoarea care este obţinută printr-o măsurare perfectă, dar după cum o măsurare perfectă nu se poate realiza înseamnă că nici valoarea adevărata a măsurandului nu se cunoaşte. Valoarea convenţional adevărată (a unei mărimi) sau referită uneori valoare de referinţă reprezintă acea valoare atribuită unei mărimi şi care este acceptată, adesea, prin convenţie ca având o incertitudine potrivită pentru un scop precizat.

Pentru a obţine o valoare adevărată trebuie realizată o măsurare perfectă, aceasta înseamnă că măsurandul trebuie definit cu suficiente detalii astfel încât orice incertitudine care rezultă din definirea lui incompletă să fie neglijabilă în comparaţie cu exactitatea necesară măsurarii, ceea ce trebuie recunoscut că, practic, nu este realizabil. Rezultă că noţiunea de valoare "adevărată" unică nu este decât un concept idealizat. Într-o anumită situaţie, valoarea atribuită unei mărimi realizate pe baza unui etalon de referinţă poate fi considerată valoare convenţional adevărată (valoare de referinţă).

Prin analiza erorii de măsurare, şi nu asupra unei singure măsurări ci asupra unei serii de măsurări a mărimii de măsurat, se pot identifica componentele erorii şi, în consecinţă, corecta valoarea măsurată. Rezultatul corectat al măsurării reprezintă **valoarea estimată a rezultatului măsurării** . Se disting următoarele trei tipuri de erori: eroare grosolană, eroare sistematică şi eroare aleatorie.

Eroare grosolană. Acest tip de eroare este produs de acele elemente ale şirului de date incompatibile cu celelalte elemente ale şirului (eşecuri de măsurare). Una din tehnicile folosite pentru detectarea valorilor aberante este reprezentată de testul Grubbs[6]. Dar, mai practic, o inspecţie a şirului de date obţinut prin măsurare indică datele care produc erori grosolane, de exemplu în şirul de valori de la Exemplul 2.1 măsurările cu numerele 12 şi 22 dau valorile 119 mg/dL respectiv 69 mg/dL, care sunt mult diferite de celelalte valori, deci sunt eliminate ca fiind eronate. Evident, erorile grosolane se elimină de la început, recomandat chiar în momentul efectuării analizei, înainte de a prelucra şirul de date citite.

2.3.1 Eroarea sistematică

Eroarea sistematică, ϵ_s, se defineşte ca fiind diferenţa între media ce s-ar putea obţine din rezultatele unui număr infinit de măsurări (teoretic, adică media teoretica μ), ale aceluiaşi măsurand, efectuate în condiţii de repetabilitate şi valoarea adevărată a măsurandului, a.

$$\epsilon_s = \overline{x} - a \tag{2.9-a}$$

Practic, în locul mediei teoretice, μ, se utilizează media experimentală, $\overline{x}$, relaţia (2.1), cum este reprezentat în Figura 2.4. Această diferenţă, calculată prin relaţia

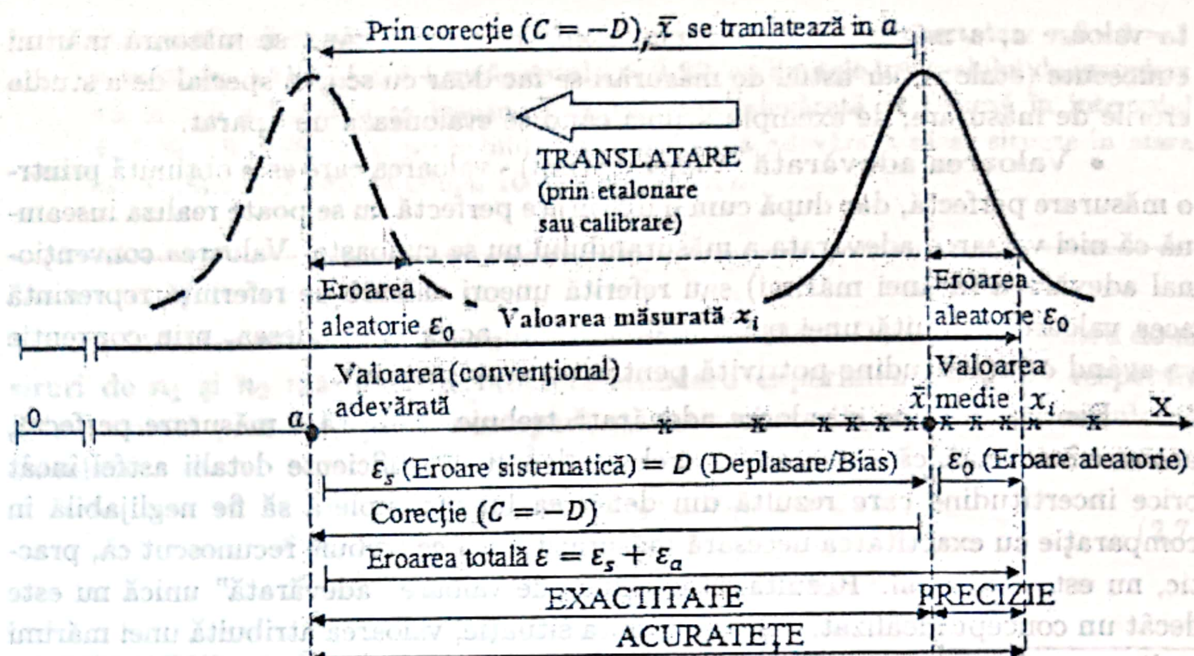


Figura 2.4 Reprezentare a componentelor sistematice şi aleatorii în valoarea mărimii măsurate

(2.9-a), curent, este referită cu termenii de **deplasare** ($D = \epsilon_s$) sau **bias**. Deplasarea, D, se calculează, de regulă, sub o formă de mărime raportată (la valoarea adevărată) şi se exprimă procentual

$$D\,\% = \frac{(\overline{x} - a)}{a} \cdot 100 \qquad (2.9\text{-b})$$

Caracteristica deplasării D (erorii sistematice) a unui proces de măsurare constă în faptul că: aceasta rămâne constantă şi este independentă de numărul de măsurări efectuate, deci nu poate fi redusă prin mărirea numărului de măsurări efectuate asupra unui măsurand dacă se păstrează condiţiile de măsurare. Uneori eroarea sistematică poate varia totuşi într-un mod predictibil (**de exemplu, poate depinde de nivelul de concentraţie**), dar are totdeauna în timpul măsurărilor acelaşi semn, pozitiv sau negativ; datorită erorii sistematice valorile măsurate ale analitului sunt fie mai mari fie mai mici decât valoarea reală.

- Cauzele care pot duce la apariţia de erori sistematice pot fi:

- variaţia condiţiilor exterioare (temperatură, presiune, umiditate, radiaţii);

- îmbătrânirea în timp a senzorilor, a materialelor de referinţă;

- neaplicarea unei corecţii de nul (zero);

- inexactitatea în calibrarea multipunct a unui echipament şi neliniaritatea;

- contaminarea probelor/interferenţe;
- eroare de blanc, efectul(/diferenţa) de matrice;
- efecte computaţionale (aproximare sau trunchiere a numerelor);
- efecte ale operatorului (paralaxă, etc.);
- etc.

• Identificarea erorilor sistematice poate fi realizată prin:

- utilizarea de etaloane sau materiale de referinţă
- determinarea valorii aceluiaşi măsurand prin metode diferite, fie în acelaşi laborator, fie în laboratoare diferite; sau prin schimbarea între laboratoare a etaloanelor sau a materialelor de referinţă pentru efectuarea unor măsurări independente este o practică recomandată; sau prin intercomparări.

• Deplasarea apare ca fiind generată: 1. datorită metodei de măsurare şi/sau; 2. datorită laboratorului. Componenta generată de metodă este o consecinţă a erorilor inerente ale metodei, iar acestea apar în orice laborator care o utilizează. Componenta datorită laboratorului este generată de efecte sistematice specifice laboratorului şi interpretării metodei în respectivul laboarator, această componentă poate fi determinată doar prin studii de intercomparaţie.
Odată identificată şi cuantificată deplasarea/bias-ul se poate decide cum se modifică rezultatul măsurării. Dacă deplasarea D este nesemnificativă în raport cu valoarea absolută a valorii adevărate a, sau are o valoare foarte mică în rapoart cu cerinţele impuse măsurării atunci deplasarea se poate neglija pentru valoarea măsurată, adică pentru analiza respectivă se raportează valoarea măsurată. Dar dacă deplasarea este semnificativă şi nu se poate neglija atunci valoarea deplasării respective trebuie eliminată din rezultatul măsurării prin aplicarea unei **corecţii** $\mathbf{C = -D}$ (se adună sau se scade D din valoarea măsurată după cum deplasarea are semnul negativ respectiv pozitiv) obţinându-se astfel **rezultatul corectat**, x_c ($x_c = x + C = x - D$). Prin aplicarea unei corecţii ($-D$) mediei experimentale, $\overline{x}$, acesteia i se atribuie valoarea (convenţional) adevărată a, ceea ce este echivalent în Figura 2.4 cu translaţia lui $\overline{x}$ din poziţia în care este notată în poziţia reprezentată de valoarea adevărată a măsurandului, ($a \leftarrow \overline{x}$).

Practic, eliminarea deplasării, din valoarea mărimii măsurate, se realizează prin etalonarea/calibrarea aparatului de măsurare.

Într-un laborator clinic, pentru realizarea testelor, unităţile de măsură specifice sunt impuse prin utilzarea materialelor de referinţă care au valori specificate, ce pot fi materiale de referinţă şi materiale de referinţă certificate. Noţiunea de **material de referinţă, RM** (Reference Material) defineşte un material sau substanţă ale cărei, una sau mai multe, valori ale proprietăţii (proprietăţilor) sale sunt suficient de omogene şi bine stabilite pentru a fi utilizate la calibrarea unui aparat de

măsurat, evaluarea unei metode de măsurare sau atribuirea de valori materialelor (sau substanţelor). O caracteristică foarte importantă pe care un RM trebuie să o îndeplinească este: matricea sa (compoziţia şi macrostructurarea, toate componentele dintr-o probă mai puţin analitul) să fie similară cu cea a probelor de analizat.

Un **material de referinţă certificat, CRM,** este însoţit de un certificat, pentru care una sau mai multe proprietăţi sunt certificate printr-o procedură şi care stabileşte trasabilitatea sa la o realizare exactă a unităţii în care sunt exprimate valorile proprietăţii respective; fiecare valoare certificată este însoţită şi de o valoare de incertitudine, determinată la un anumit nivel de încredere [7].

• **Trasabilitatea**, se defineşte ca fiind proprietatea unui rezultat al unei măsurări sau a valorii unui material standard prin care acestea pot fi raportate la o referinţă stabilă, de obicei standarde naţionale sau internaţionale, printr-un lanţ neîntrerupt de comparaţii, fiecare nivel din acest lanţ având incertitudinea specificată. **Trasabilitatea metrologică** realizează ca valorile măsurărilor într-un laborator să fie consistente **-trsabile-** la standardele naţionale sau internaţionale (etaloanele SI); prin aceasta se asigură ca toate laboratoarele să utilizeze aceeaşi scară de măsură, să fie conectate/ (racordate) la acelaşi "punct de referinţă", deci să se obţină o uniformitate a măsurărilor la nivel naţional/internaţional. Trasabilitatea asigură pentru o aceeaşi analiză compatibilitatea în timp (efectuată în acelaşi laborator la diferite momente) şi în spaţiu (efectuată în laboratoare diferite). Valorile de referinţă acceptate pentru o metodă de analiză pot preveni: 1. de la materiale de referinţă sau; 2. pot fi furnizate de către o metodă de (analiză) referinţă. JCTLM (Joint Committee for Trasability in Laboratory Medicine), al cărui obiectiv este de a stabili o platformă mondială dedicată trasabilităţii în biologia medicală, a publicat, www.bipm.org, la 1 febr 2006, sub egida BIPM (Bureau Internationale des Poids et Mesures) o listă cu primele 133 denumiri de analiţi, medicamente şi toxine pentru care există deja materiale de referinţă şi metode de referinţă trasabile la SI. Materialele de referinţă sunt instrumente importante pentru realizarea transferului acurateţei măsurărilor între laboratoare. De exemplu, un etalon standard internaţinal poate fi un preparat de hormon agreat internaţional în raport cu care, printr-un lanţ de comparaţii succesive între preparate intermediare, s-a stabilit valoarea şi incertitudinea calibratorului din trusa de lucru cu care se calibrează analizorul din laborator.

Unitatea de etalonare utilizată pentru un proces de etalonare la un anumit nivel (verigă) a lanţului de trasabilitate este caracterizată (îi este asociată prin certificatul însoţitor) şi o anumită incertitudine; în consecinţă rezultatul unei măsurări la acel nivel va avea o incetitudine asociată egală cu: 1. cea a etalonului utilizat; 2. plus incetitudinea asociată procesului de etalonare de la acel nivel. Cu cât nivelul din lanţul trasabilităţii este mai ridicat (mai aproape de etalonul SI sau naţional) cu atât incertitudinea asociată unităţii de etalonare este mai mică şi invers la niveluri mai joase, în lanţul trasabilităţii, incertitudinea asociată unităţii de etalonare este mai mare; "tăria" lanţului de trasabilitate este caracterizată de

incertitudinile asociate fiecărui nivel. În urma etalonării unui analizor, pentru toate rezultatele măsurărilor obţinute apoi pe acel analizor se va asocia o valoare de incertitudine care printre componentele de incertitudine conţine şi o componentă de incertitudine de etalonare. Valoarea acestei componente de incertitudine de etalonare a analizorului este determinată de incertitudinea materialului de etalonare utilizat (specificată în certificatul însoţitor).

Trasabilitatea şi incertitudinea sunt două concepte interdependente şi care stau la baza implementarii calităţii într-un laborator medical.

• **Liniaritatea.** Aparatele de măsurat se realizează cu o caracteristică de transfer liniară (dependenţa liniară între mărimea de intrare, de exemplu concentraţia analitului şi mărimea de ieşire, de exemplu cifra afişată pe display sau tipărită), adică aceasta poate fi reprezentată grafic printr-o dreaptă pe întreg domeniu de măsurare al aparatului. Chiar dacă uneori, fizic, între mărimea de intrare şi cea de ieşire nu este o dependenţă liniară, pe întreg domeniul de măsurare al aparatului (frecvent aceasta poate apare în zona concentraţilor mici şi mari, adică la extremităţile domeniului de măsurare), aparatul prin softul integrat compensează ("liniarizează") intervalele de neliniaritate, astfel că rezultă o caracteristică de transfer liniară, în special pe domeniul de referinţă. Procedura cea mai des utilizată pentru verificarea liniarităţii caracteristicii de transfer a unui aparat de măsurat se bazează pe determinarea **dreptei/liniei de regresie** aplicând calculul celor mai mici pătrate; în continuare se prezintă fundamentarea modului de determinare a dreptei de regresie.

Utilizând n eşantioane de materiale de referinţă, de concentraţii diferite, care să acopere întreg domeniul de măsurare al aparatului sau cel puţin domeniu de referinţă, prin testarea acestora se obţin următoarele n perchi de valori intrare - ieşire: $(x_1, y_1), (x_2, y_2), \ldots, (x_i, y_i), \ldots, (x_n, y_n)$ care sunt plasate sub forma unor puncte într-un plan de coordonate xoy ca în Figura 2.5 (Coordonatele pe abscisă, x_i, corespund valorilor specificate pentru materiale de referinţă care se testează, iar coordonatele corespunzătoare pe ordonată y_i corespund valorilor măsurate cu aparatul pentru materialele de referinţă). Astfel de n eşantioane de date pot fi culese şi printr-o comparare între o metodă de testat cu o metodă de comparat/referinţă; de data aceasta se pot măsura n probe de pacient, valorile obţinute prin metoda de referinţă sunt introduse ca şi coordonate pe abscisă, x_i, iar valorile obţinute prin metoda de testat sunt introduse ca şi coordonate corespunzătoare, y_i, pe ordonată. La o prima inspecţie, vizual, se poate estima dacă aceste puncte sunt pe o dreaptă, dar o abordare mai exactă este trasarea unei drepte (de regresie) printre aceste puncte astfel încât această dreaptă să treacă prin cât mai multe puncte, dacă este posibil, sau să fie cât mai aproape de cât mai multe din aceste puncte. Realizarea unei apropieri, a dreptei de regresie, de cât mai multe puncte se poate exprima cantitativ astfel: suma pătratelor distanţelor (pe verticală), ϵ_i de la fiecare punct i $(= 1, 2, 3, \ldots, n)$ figurat în sistemul de coordonate xoy până la dreapta de regresie, să fie minimă, $(\sum(\epsilon_i)^2$, "adică cele mai mici

pătrate"). Dreapta de regresie poate fi descrisă prin ecuaţia:

$$y = a \cdot x + b \tag{2.10}$$

în care:

a - este panta dreptei, care fizic exprimă sensibilitatea procesului de măsurare ($a = \Delta y/\Delta x$), adică cu cât variază mărimea de ieşire (Δy) la o variaţie (Δx) a mărimii de intrare;

b - este ordonata la origine, referită şi ca "intercept" (intersecţia axei ordonatelor), adică valoarea mărimii de ieşire când mărimea de intrare este zero (fizic, în general, aceasta este ordonata punctului de calibrare cu blanc-ul).

Dreapta de regresie trece prin punctul de coordonate $(\overline{x}, \overline{y})$, deci se poate scrie

$$\overline{y} = a \cdot \overline{x} + b \tag{2.11}$$

în care $\overline{x}$ este media aritmetică a valorilor celor n coordonate de pe abscisă, iar $\overline{y}$ este media aritmetică a valorilor celor n coordonate de pe ordonată, medii calculate cu relaţia (2.1).

Parametrii a şi b ai ecuaţiei dreptei se pot calcula, pe baza celor mai mici pătrate, cu următoarele relaţii:

$$a = \frac{n \cdot \sum_{i=1}^{n} x_i \cdot y_i - \sum_{i=1}^{n} x_i \sum_{i=1}^{n} y_i}{n \cdot \sum_{i=1}^{n} x_i^2 - \left(\sum_{i=1}^{n} x_i\right)^2} \qquad b = \overline{y} - a \cdot \overline{x} \tag{2.12}$$

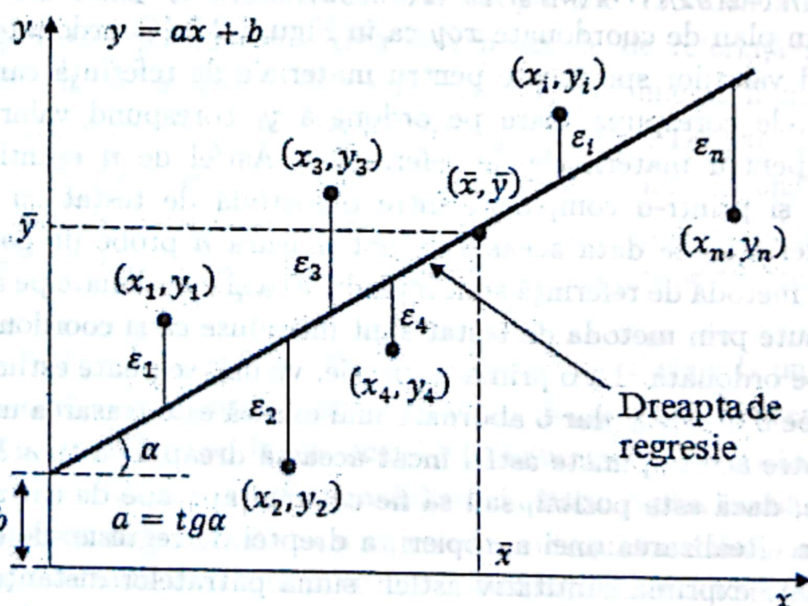


Figura 2.5 **Determinarea caracteristicii de transfer ca o dreaptă de regresie prin metoda celor mai mici pătrate**

Numărul de grade de libertate ν este egal cu numărul n de teste (de puncte figurate în planul xoy) minus numărul de parametri necesari pentru a determina ecuaţia caracteristicii de transfer. În cazul caracteristicii exprimată ca dreaptă, $y = a \cdot x + b$, sunt necesari doi parametrii (a şi b), deci numărul de grade de libertate este $\nu = n - 2$, iar dacă această caracteristică este o dreaptă, $y = a \cdot x$, care trece prin origine, ($b = 0$), atunci $\nu = n - 1$ deoarece este necesar să se determină doar un singur parametru, adică a. Mai concret, numărul de grade de libertate ν exprimă: care este numărul de date (puncte) experimentale rămase pentru a "potrivi" caracteristica de transfer, dupa ce s-a "consumat" un numar k de date (puncte) pentru a calcula cei k parametri necesari pentru determinarea curbei respective a caracteristicii de transfer, deci rămân $\nu = n - k$.

Cât de bine punctele, determinate prin testare, corespund pentru o reprezentare liniară a caracteristicii de transfer a aparatului se poate exprima cantitativ prin coeficientul de corelaţie r, care se calculează cu relaţia

$$r = \frac{\sum_{i=1}^{n} x_i \cdot y_i - n\overline{x} \cdot \overline{y}}{\sqrt{\left(\sum_{i=1}^{n} x_i^2 - n \cdot \overline{x}^2\right)\left(\sum_{i=1}^{n} y_i^2 - n \cdot \overline{y}^2\right)}} \tag{2.13}$$

Calculând coeficientul de corelaţie r, liniaritatea caracteristicii de transfer a aparatului se poate aprecia după următoarele intervale de valori:

- $0,90 < r < 0,95$ o caracteristică destul de liniară
- $0,95 < r < 0,99$ o caracteristică liniară bună
- $r > 0,99$ o caracteristică liniară foarte bună

Pentru un analizor la care se dă curba (dreapta) de calibrare, determinând valorile y_i pentru toate valorile x_i ale materaialelor de referinţă testate, prin metoda celor mai mici pătrate se poate stabili cât se abate dreaptă de calibrare de la liniaritate calculând coeficientul r, cu relaţia (2.13).

O altă modalitate simplă pentru a constata, vizual, liniaritatea rezultă prin următoarea construcţie grafică. Pentru fiecare perechea de coordonate (x_i, y_i) ale fiecărui punct de test i, se calculează raportul y_i/x_i. Apoi, într-un plan xoy se plasează punctele de coordonate $(x_i, y_i/x_i)$, aceste puncte trebuie să fie pe o dreaptă orizontală (eventual, o abatere de la orizontalitate la extremităţi, în zonele de concentraţii mici şi mari) dacă aparatul are o caracteristică de transfer liniară. Dacă domeniul x_i al concentraţiilor caracteristicii de transfer se întinde peste mai multe ordine de mărime, atunci pentru micşorarea lungimii axei x, aceasta se reprezintă la scară logaritmică, adică se va reprezenta punctele de coordonate $(log\, x_i, y_i/x_i,)$.

Dreapta de regresie este un instrument pentru determinarea valorii erorii sistematice pe întreg intevalul (de pe axa absciselor) pe care această dreaptă este

definită. De exemplu, eroarea sistematică, ϵ_s, la o concentraţie de decizie medicală x_c se poate determina conform relaţiei (2.10). Pentru valoarea x_c de pe dreapta de regresie

$$y_c = a \cdot x_c + b \tag{2.14-a}$$

se citeşte y_c, apoi prin efectuare diferenţei între concentraţia citită şi valoarea x_c

$$\epsilon_s = y_c - x_c = a \cdot x_c + b - x_c = (a - 1) \cdot x_c + b \tag{2.14-b}$$

rezultă eroarea sistematică.

Exemplul 2.4 Prin comparare cu o metodă de referinţă a unei metode testate pentru analiză de colesterol s-a determinat pentru dreapta de regresie următoarea expresie $y = 1,03 \cdot x + 2$ (interceptul este de 2 mg/dL, iar panta $a = 1,03$). Să se calculeze eroarea sistematică, ϵ_s, a metodei testate la nivelul de decizie critică de x_c=200 mg/dL.

Soluţie: Pentru nivelul de decizie critică de 200 mg/dL, din caracteristica de regresie, se determină valoarea $y_c = 1,03 \cdot 200 + 2 = 208$ mg/dL, iar eroarea sistematică, calculată conform relaţiei (2.14-b), este $\epsilon_s = 208 - 200 = 8$ mg/dL.

Dreapta de regresie realizează, pentru o metodă de măsurare, o caracteristică de transfer ideală când se suprapune peste bisectoarea întâia, o dreaptă ce porneşte din origine ($b = 0$) cu panta unitară ($a = tg\,45° = 1$), Figura 2.6-a; pentru o astfel de caracteristică nu există eroare sistematică (bias), valoarea măsurată este egală cu valoarea mărimii măsurate ($y_c = x_c$). În practică caracteristicile de transfer nu totdeauna realizează relaţia $y_c = x_c$, valoarea măsurată y_c poate fi diferită de valoarea specificată a mărimii măsurate x_c, diferenţa dintre acestea, relaţia (2.14-b), fiind eroarea sistematică (deplasarea/biasul). Eroarea sistematică poate fi constantă pentru toate probele măsurate, poate să se modifice proporţional cu creşterea valorii concentraţiei analitului în probele măsurate sau poate să conţină ambele, atât componenta constantă cât şi cea proporţională.

Eroarea sistematică constantă, Figura 2.6-b poate fi provocată de interferenţe în probele analizate, ceea ce duce la o creştere sau descreştere constantă a valorii măsurate a analitului. Frecvent, astfel de interferenţe apar de exemplu, în spitalele oncologice unde pacienţii sunt trataţi cu substanţe care rămân în organism sau în centrele de transplant când pacienţii sunt trataţi cu medicamente antirejectante; de asemenea, probleme de interferenţe pot fi cauzate de hemoliză, lipemie sau concentraţie ridicată de bilirubin. O modalitate de a determina componenta de eroare sistematică constantă, pentru o metodă de măsurare, poate fi următoarea. Intr-o probă de test se adaugă o cantitate din substanţa suspectă de interferenţă (interferent) cu analitul de interes. O a doua probă alicotă se diluează cu un solvent în cantitate egală cu cea a interferentului, apoi fiecare probă este analizată de mai mule ori prin metoda de testat. Diferenţa între media măsurilor pe proba tratată cu interferent şi media măsurărilor pe proba diluată exprimă o estimare a erorii sistematice constante.

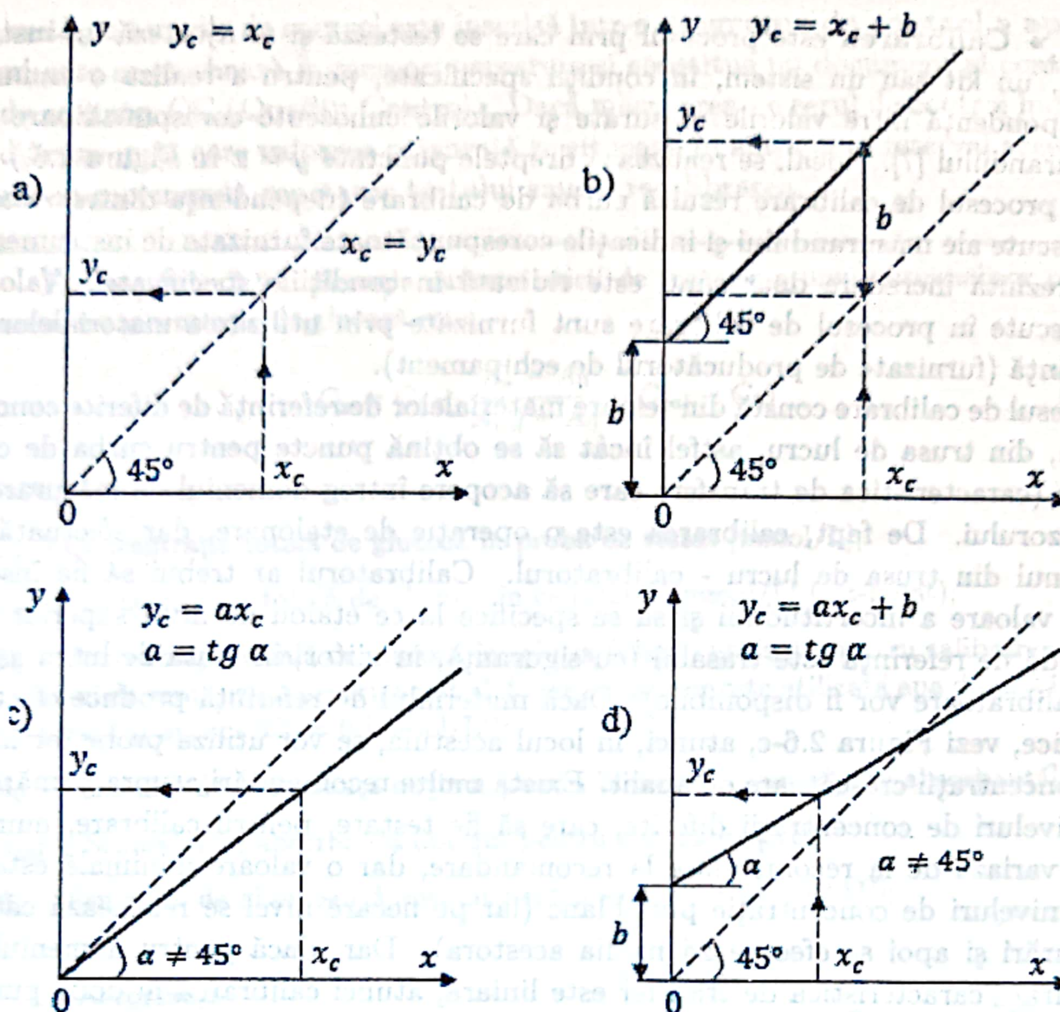


Figura 2.6 **Dreapta de regresie:** a) fără eroare sistematică; b) cu eroare sistematică constantă c) cu eroare sistematică proproţională; d) cu eroare sistematică constantă şi proporţională

Eroarea sistematică proporţională (cu concentraţia), Figura 2.6-c este adesea cauzată de către o substanţă prezentă în matricea probei de analizat care reacţionează cu analitul de interes, prin urmare este activată de reactiv. Eroarea proporţională cauzată poate fi estimată printr-un test de recuperare (recovery) în modalitatea următoare. Într-o probă de paciant se introduce o cantitate din analitul de interes (cel mai des se adaugă un standard sau un calibrator corespunzător analitului de interes). Într-o a doua probă alicotă se adaugă un diluant sau solvent în aceeaşi cantitate, egală cu cea a analitului în prima probă; se măsoară ambele probe de câteva ori şi se calculeză media pentru fiecare probă. Regăsirea procentuală ($R\%$) este egală cu diferenţa mediilor celor doua probe împărţită la cantitatea adăugată, totul înmulţit cu 100. Eroarea sistematică proporţională este egală cu diferenţa $100\% - R\%$.

Caracteristica de transfer a unei metode afectate atât de eroare sistematică proporţională cât şi de eroare sitematică constantă este prezentată în Figura 2.6-d.

• **Calibrarea** este procesul prin care se testează şi se ajustează un instrument, un kit sau un sistem, în condiţii specificate, pentru a realiza o anumită corespondenţă între valorile măsurate şi valorile cunoscute corespunzătoare ale măsurandului [7]. (ideal, se realizează dreptele punctate $y = x$ în Figura 2.6.)
Prin procesul de calibrare rezultă curba de calibrare (dependenţa dintre valorile cunoscute ale măsurandului şi indicaţile corespunzătoare furnizate de instrument), ce prezintă încredere doar când este ridicată în condiţiile specificate. Valorile cunoscute în procesul de calibrare sunt furnizate prin utilizarea materialelor de referinţă (furnizate de producătorul de echipament).
Procesul de calibrare constă din testare materialelor de referinţă de diferite concentraţii, din trusa de lucru, astfel încât să se obţină puncte pentru curba de calibrare (caracteristica de transfer) care să acopere întreg domeniul de măsurare al analizorului. De fapt, calibrarea este o operaţie de etalonare, dar efectuată cu etalonul din trusa de lucru - calibratorul. Calibratorul ar trebui să fie însoţit de o valoare a incertitudinii şi să se specifice la ce etalon de nivel superior sau metodă de referinţă este trasabil (cu siguranţă, în viitor, în trusa de lucru astfel de calibratoare vor fi disponibile). Dacă materialul de referinţă produce efect de matrice, vezi Figura 2.6-c, atunci, în locul acestuia, se vor utiliza probe fortifiate cu concentraţii crescătoare de analit. Există multe recomandări asupra numărului de niveluri de concentraţii diferite, care să fie testate, pentru calibrare, numere care variază de la recomandare la recomandare, dar o valoare minimală este de şase niveluri de concentraţie plus blanc (iar pe fiecare nivel se realizează câteva măsurări şi apoi se efectuează media acestora). Dar, dacă pentru domeniul de măsurare caracteristica de transfer este liniară, atunci calibrarea în două puncte este suficientă pentru determinarea pantei dreptei de calibrare.

Calibrarea în două puncte este practica comună pentru analizoarele multitest automate actuale; tipic, cu un calibrator (blancul) se fixează punctul de zero (de blanc) şi cu alt calibrator se fixează "set-point". *Curba de calibrare se consideră, o presupunere general acceptată şi realizată, că este o dreaptă ce uneşte punctul de zero de calibrare cu punctul set-point de calibrare şi se continuă şi după acesta până la limita de liniaritate maximă L_{LM} (care de regulă este egală cu limita superioară, L_S, a domeniului de măsurare, $L_{LM} = L_S$).*

Pe analizoarele actuale procesul de calibrare (în două puncte sau multipunct) se realizează automat (generându-se grafic şi dreapta de calibrare) iar, în urma acestuia, este compensată automat deplasarea/bias-ul, D; prin acest proces de calibrare automată poziţia pentru valoarea medie $\overline{x}$ este translatată în poziţia pentru valoarea adevărată a (teoretic, deoarece practic este foarte dificil realizarea unei corecţii perfecte), din Figura 2.4. Neaplicarea unei corecţii perfecte este afectată de o anumită incertitudine care trebuie specificată (asociată) în raportarea rezultatului măsurării (vezi secţiunea 3.4).

Operaţia de calibrare, tipic, se realizează saptămânal sau lunar, cu calibratori, iar controlul aparatului, cu seruri de control, la fiecare şase ore. Informaţia

obţinută cu serurile de control este înscrisă într-o **diagrama de control a aparatului** care se stochează în memoria acestuia şi constitue un document al controlului de calitate, QC (Quality Control). Dacă măsurarea pe serul de control indică o modificare, prin care valoarea măsurată se situează în afara unui interval acceptat, atunci se recomandă repetarea testului sau/şi recalibrarea.

Exemplul 2.5 Ecuaţia caracteristicii de transfer a unui autoanalizor pentru măsurarea concentraţie de glucoză este:

$$C_x = C_0 + \frac{A_x - A_0}{A_{cal} - A_0} \cdot (C_{cal} - C_0) \tag{2.15}$$

în care:

C_x - Concentraţia totală de glucoză în proba de testat [mmol/L];

C_{cal} - Concentraţia totală de glucoză în calibrator [mmol/L] (set-point);

C_0 - Concentraţia totală de glucoză în soluţia (blanc) utilizată pentru calibrarea punctului de zero (uzual pentru acest al doilea calibrator este utilizată apa distilată/deionizată şi atunci ($C_0 = 0$ [mmol/L]);

A_0 - Semnalul de absorbanţă obţinut pentru blanc [AU - unităţi de absorbanţă];

A_{cal} - Semnalul de absorbanţă obţinut pentru calibrator [AU];

A_x - Semnalul de absorbanţă obţinut pentru soluţia de probă [AU];

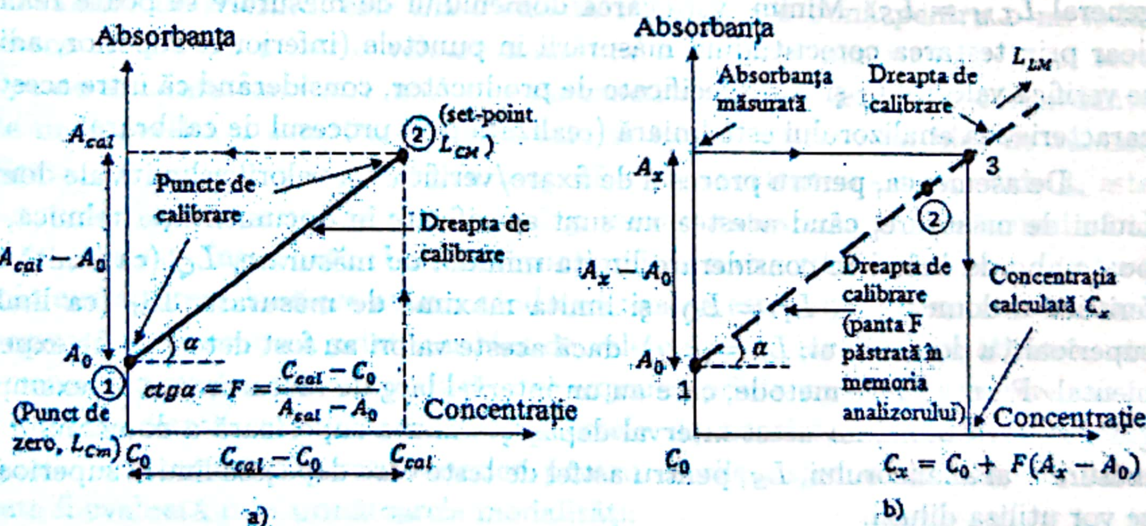


Figura 2.7 **Procesul de calibrare şi măsurare:** a) **calibrare** - determinarea dreptei de calibrare prin două puncte (panta F se stochează în memorie); b) **măsurare** - determinarea unei concentraţii C_x pe baza pantei F stocate în memoria aparatului

Procesul de calibrare este prezentat în Figura 2.7-a, calibrarea se realizează în două puncte (① - punctul de zero şi ② - set-point). Coordonatele celor două puncte de calibrare se determină prin măsurarea blancului (A_0, C_0) şi prin măsurarea calibratorului

(A_{cal}, C_{cal}). Pe baza acestor informaţii obţinute autoanalizorul calculează valoarea pantei F a dreptei de calibrare (de fapt, este inversul pantei, $ctg\,\alpha$) şi o stochează în memorie

$$F = \frac{C_{cal} - C_0}{A_{cal} - A_0} \quad (2.16)$$

Apoi, în procesul de măsurare, Figura 2.7-b, pentru proba supusă măsurării, se determină absorbţia probei corectată cu blancul $(A_x - A_0)$, pe care calculatorul o înmulţeşte cu factorul F (stocat în memoria calculatorului) rezultând valoarea concentraţiei C_x raportată la blanc C_0, $(C_x - C_0) = F \cdot (A_x - A_0)$, relaţie din care se calculează C_x

$$C_x = C_0 + F \cdot (A_x - A_0) \quad (2.17)$$

• **Domeniul de măsurare, $\mathrm{D_M}$,** (uneori referit şi ca domeniu analitic) este definit ca intervalul în care ***metoda prezintă o caracteristică liniară de transfer***, iar rezultatete obţinute pot fi raportate. Domeniul de măsurare se specifică, în documentaţia tehnică de către producătorul analizorului între o limită inferioară, L_I şi o limită superioară, L_S, $D_M = [L_I, L_S]$.

Când domeniul de măsurare rezultă din documentaţia tehnică este critic să se verifice doar cele două limite specificate, mai ales pentru calibrarea în două puncte când se consideră că drepta de calibrare porneşte din zero point trece prin set-point şi se continuă după acesta până la limita de liniaritate maximă, L_{LM}, în general $L_{LM} = L_S$. Minim, verificarea domeniului de măsurare se poate realiza doar prin testarea corectitudinii măsurării în punctele (inferior şi superior, adică se verifică valorile L_I şi L_S) specificate de producător, considerând că între acestea caracteristica analizorului este liniară (realizată prin procesul de calibrare).

De asemenea, pentru procesul de fixare/verificare a valorilor limită ale domeniului de măsurare, când acestea nu sunt specificate în documentaţia tehnică, se poate aborda luând în considerare limita minimă de măsurare, L_Q (ca limită inferioară a domeniului, $L_I = L_Q$) şi limita maximă de măsurare, L_M (ca limită superioară a domeniului, $L_S = L_M$), dacă aceste valori au fost determinate experimental. Pentru unele metode, care au un interval larg de măsurare, ca de exemplu glucoză, creatinină, iar acest interval depăşeşte limita superioară a domeniului de măsurare al analizorului, L_S, pentru astfel de teste care depăşesc limita superioară se vor utiliza diluţii.

Domeniul de măsurare se poate determina experimental, proces care este identic cu obţinerea dreptei de regresie, Figura 2.5; numărul minim de niveluri de test recomandate fiind 5 [22]. Se obţin, în cantitate suficientă, două niveluri de material de test: unul de concentraţie joasă, C_L, aproape de nivelul zero de concentraţie sau de limita minimă de măsurare, iar celălalt de concentraţie ridicată, C_H, egal sau puţin mai mare decât limita maximă a domeniului de măsurare. Cele cinci niveluri de test C_i $(i = 1, 2, 3, 4, 5)$ preparate pentru verificarea domeniului de măsurare vor fi: $C_1 = C_L$; $C_2 = 75\,\%\,C_L + 25\,\%\,C_H$; $C_3 = 50\,\%\,C_L + 50\,\%\,C_H$;

$C_4 = 25\,\%\,C_L + 75\,\%\,C_H$; $C_5 = C_H$. Pentru fiecare nivel se fac trei determinări, apoi se face media pe acel nivel. Se trasează punctele într-un sistem de axe, pe axa y valorile măsurate iar pe x valorile de concentraţii prepararate. Manual se **trasează drepta de transfer** care să treacă prin cât mai multe puncte, sau cât mai aproape de cele cinci puncte şi apoi se estimează intervalul pentru domeniul de măsurare al analizorului (între ce limită inferioară, L_I şi ce limită superioară, L_S, se poate considera că prezintă o caracteristică de transfer liniară).

• **Exactitatea/Inexactitatea** (trueness - engl., justess - fr.) - este o noţiune (de caracterizare) calitativă a procesului de măsurare şi reflectă gradul de concordanţă între valoarea medie obţinută dintr-un set mare de rezultate, în condiţii de repetabilitate, şi o valoare de referinţă, Figura 2.4, (care se presupune a fi echivalentă cu "valoarea convenţională adevărată")[3]. În absenţa unor etalone primare şi/sau de materiale de referinţă certificate (CRM) pentru cea mai mare parte dintre analiţi, noţiunea de exactitate în biologia medicală prezintă o abordare dificilă, destul de relativă. Laboratorul va trebui să utilizeze, pentru a aborda exactitatea, "calibranţi" de la furnizori, date rezultate în urma comparării cu o metodă de referinţă, date de la controlul extern de calitate sau date obţinute de la controlul intern de calitate, cu materiale de control produse doar de fabricantul aparatului (dar aceste date numai după o confruntare/comparare externă).

O exprimare cantitativă, pentru noţiunea de exactitate, se obţine prin valoarea calculată pentru deplasare/bias cu relaţia (2.9-a). Dar, conform definiţiei de mai sus pentru exactitate, atunci când gradul de concordanţă între valoarea medie şi o valoare de referinţă este mare rezultă o exactitate bună pentru o metodă, ceea ce se reflectă printr-o valoare mică sau neglijabilă pentru bias (prin care se poate exprima cantitativ noţiunea de exactitate), şi invers când concordanţă este mică rezultă o exactitate redusă care se exprimă printr-un bias de valoare ridicată. Se poate introduce noţiunea opusă - **inexactitatea** - care, evident, este însemnată când exactitatea este redusă şi inexactitatea este redusă atunci când exactitatea este însemnată. Utilizarea noţiunii de inexactitate pare mai intuitivă decât exactitatea, deoarece atunci când exactitatea este redusă inexactitatea este însemnată şi se exprimă printr-un bias de valoare mare, iar când exactitatea este însemnată inexactitatea este redusă şi se exprimă printr-un bias de valoare mică.

Inexactitatea exprimă, în fond, efectele sistematice, deci cauzele de care depinde sunt cele enumerate anterior pentru erorile sistematice. Inexactitatea poate fi evaluată prin următoarele modalităţi:

- prin compararea (diferenţa) între valoarea medie obţinută prin măsurarea repetată a unui material de referinţă şi valoarea de referinţă specificată (valoarea adevărată/ţintă);

- prin compararea valorii medii asupra probelor de pacienţi cu o valoarea medie obţinută asupra aceloraşi probe prin măsurări dar printr-o metodă de referinţă;

- prin compararea valorii medii obţinute cu o valoare furnizată de producătorul analizorului;
- prin intercomparări: compararea valorii medii obţinute de laborator cu o valoare medie obţinuta de un grup de laboratoare care utilizează aceeaşi metodă (peer group) sau cu o valoare medie generată pentru un grup de laboratoare cu metode diferite.

Într-o aplicaţie de intercomparare [7], valoarea deplasării metodei analitice a laboratorului participant este estimată în raport cu valoarea X atribuită pentru concentraţia variabilei din probă (probă care a fost distribuită de coordonatorul intercomparaţiei tuturor participanţilor grupului). Valoarea atribuită X, stabilită de coordonatorul aplicaţiei de intercomparaţie, poate fi o valoare independentă de rezultatele comparării interlaboratoare (material de referinţă, metodă de referinţă), poate fi o estimare a valorii adevărate (o medie) efectuată de unele laboratoare expert sau poate fi o valoare de consens după evaluarea rezultatelor returnate de participanţi.

Valoarea deplasării se calculează ca diferenţa, $\overline{x} - X$, dintre valoarea medie, $\overline{x}$, raportată de laboratorul participant şi valoarea X stabilită de coordonatorul aplicaţiei. Dacă se stabileşte o abatere standard $s_{intercomp}$ pentru distribuţia datelor utilizate în aplicaţia de intercomparaţie, atunci se poate calcula indicatorul denumit scorul Z

$$Z = \frac{\overline{x} - X}{s_{intercomp}} \quad (2.18)$$

care exprimă numărul de abateri standard $s_{intercomp}$ ce separă rezultatul laboratorului ($\overline{x}$) de valoarea medie (X) a grupului de comparaţie. O valoare aproape de zero pentru Z arată că deplasarea laboratorului este mică în raport cu valoarea stabilită pentru grup, iar o valoare mai mare de doi exprimă faptul că există doar o probabilitate de 5% (vezi Tabelul 1.2) ca laboratorul să producă date exacte.

2.3.2 Eroarea aleatorie

- **Eroarea aleatorie,** ϵ_a - diferenţa între rezultatul x al unei măsurări şi media ce s-ar obţine din rezultatele unui număr infinit de măsurări (adică media teoretică, μ) ale aceluiaşi măsurand, măsurări efectuate **în condiţii de repetabilitate.**

Dar, practic, în locul mediei teoretice se va utiliza media aritmetică experimentală, $\overline{x}$, relaţia (2.1), atunci pentru eroarea aleatorie se va determina doar o estimaţie a acesteia, $\epsilon_a = x - \overline{x}$. Estimaţia unei erori aleatorii este acea valoare care rezultă în urma eliminării din eroarea totală ϵ, relaţia (2.8), a erorii sistematice, ϵ_s, adică $\epsilon_a = \epsilon - \epsilon_s$, deci eroarea aleatorie rămâne în valoarea mărimii măsurate după aplicarea corecţiei sistematice, $C = -\epsilon_s(= -D)$. Din Figura 2.4 se poate deduce că eroarea aleatorie în cazul măsurării repetate a aceluiaşi măsurand poate fi atât

pozitivă cât şi negativă, spre deosebire de eroarea sistematică care poate fi numai pozitivă sau numai negativă. Eroarea aleatorie, reflectă dispersia/variabilitatea valorilor măsurate în jurul valorii $\overline{x}$, poate fi caracterizată prin abatera standard experimentală, relaţia (2.2) sau abatere standard relativă, RSD ori Coeficientul de Variaţie, CV, relaţiile (2.3) şi (2.4).

Eroarea aleatorie nu poate fi compensată ! Este inerentă oricărui proces de măsurare.

• Eroarea aleatorie apare din cauza unei multitudini de factori a căror influenţă individuală este neglijabilă, de foarte multe ori necunoscuţi şi pentru care nu există posibilitatea depistării şi înlăturării acestor influenţe (la nivelul tehnicii şi preciziei de măsurare); eroarea aleatorie poate fi considerată ca rezultanta tuturor efectelor unor astfel de factori. Astfel de factori sunt prezenţi în funcţionarea unei metode ca de exemplu: pipetarea probelor, condiţiile de reacţie care depind de temporizări, de mixare, de temperatură, de umiditate, de operator etc. În sistemele neautomatizate variaţiile în tehnica individuală a operatorilor pot fi o contribuţie importantă în variabilitatea/dispersia măsurărilor. Pentru măsurările automate lipsa de uniformitate şi instabilitate a aparatului precum şi condiţiile de reacţie pot cauza variaţii pozitive sau negative în rezultatul măsurărilor. Erorile aleatorii sunt inevitabile, ele nu pot fi înlăturate din valorile estimate ale măsurărilor. Dar, cu ajutorul teoriei probabilităţilor, se poate lua în considerare în ce măsură erorile aleatorii influenţează estimaţiile pentru valorile mărimilor măsurate (şi incertitudinea asociată estimaţiei respective).

• **Precizia/Imprecizia** (engl. - precision, fr. - fidélité) - la fel ca şi noţiunea de exactitate, pentru efectele sistematice, este o noţiune (de caracterizare) calitativă, dar pentru exprimarea efectelor aleatorii. Noţiunea de precizie exprimă gradul de concordanţă între rezultatele independente/individuale, ale unei serii de măsurări, efectuate în condiţii prevăzute. Specificaţia - condiţii prevăzute - înseamnă că trebuie să fie statuat exact modul în care se efectuează măsurările. În funcţie de aceste condiţii de măsurare exprimarea preciziei se prezintă sub următoarele trei forme:

1. **Repetabilitatea** - exprimă precizia unui set de măsurări efectuate cu aceeaşi metodă pe elemente de testare identice, în acelaşi laborator, utilizând acelaşi echipament, acelaşi lot de reactivi, acelaşi operator, iar măsurările se realizează într-o perioadă scurtă de timp. Evident, din enumerarea acestor condiţii de măsurare prevăzute, rezultă că repetabilitatea reflectă dispersia procesului de măsurare, deci poate fi exprimată prin abaterea standard experimentală SD a procesului de măsurare, dar mai potrivită este abatera standard relativă, RSD, relaţia (2.3) sau coeficientul de variaţie CV, relaţia (2.4). În practică, se recomandă ca repetabilitatea să fie determinată pentru diferite niveluri de concentraţii. Numărul de măsurări recomandat pentru fiecare nivel este cuprins între 10 si 30 (poate fi chiar 5 pentru determinările manuale) în funcţie de costul reactivilor.

Se poate introduce un criteriu pentru apreciera gradului de repetabilitate,

acesta fiind limita de repetabilitate. **Limita de repetabilitate**, notată cu r, este o valoare care se calculează în funcţie de abaterea standard experimentală, $s(x)$ şi de variabila t_∞, din Tabelul 3.4, cu următoarea relaţie

$$r = t_\infty \cdot \sqrt{2} \cdot s(x) \tag{2.19}$$

Interpretarea noţiunii de limită de repetabilitate este următoarea: valoarea sub care este de aşteptat ca diferenţa absolută dintre două rezultate a două măsurări, ale aceluiaşi set de măsurări, să se situeze cu o probabiliate p. De exemplu, dacă probabilitatea (nivelul de încredere) se consideră 95% atunci din TABELUL 3.4, pentru $\nu = \infty$ rezultă valoarea lui $t_\infty = 1,96$, atunci cu relaţia anterioară se calculează limita de repetabilitate, a procesului de măsurare, cu un grad de încredere de 95%, în funcţie de abaterea standard experimentală $s(x)$, ca fiind egală cu $r = \sqrt{2} \cdot 1,96 \cdot s(x) = 2,77 \cdot s(x)$. Utilizând această noţiune de calcul, limita de reapetabilitate, se poate decide dacă doua analize efectuate în acelaşi laborator, la un anumit interval de timp diferă sau nu din punct de vedere al procesului de măsurare; ca aceste două măsurări să fie diferite, deci parametrul biologic analizat să se fi modificat, trebuie ca valorile celor două măsurări să difere cu cel puţin limita de repetabilitate. Pentru acest caz de comparare între analize, în valoarea limitei de repetabilitate, s-a considerat doar variabilitatea procesului de măsurare (variabilitatea analitică), pentru cazul când se ia în considerare şi variabilitatea biologică (inter-individual) vezi Exemplul 3.14-b şi 3.15.

2. **Reproductibilitatea internă** (**Precizia intermediară**, intra-analiză sau intra-laborator) - exprimă dispersia/variabilitatea pe termen lung a procesului de măsurare în cadrul laboratorului pentru elemente de testare identice cu: loturi diferite de reactivi, operatori diferiţi, calibrări cu calibratori diferiţi. (Pentru analizoarele complet automate operatorul sau operatorii nu pot infuenţa variabilitatea testelor, deci factorul operator se exclude). Reproductibiltatea internă, faţă de repetabilitate, introduce în distribuţia rezultatelor o influenţă suplimentară datorată condiţiilor modificate. Totdeauna în raportarea reproductibilităţii interne trebuie specificate care din condiţii sunt modificate faţă de un test de repetabilitate, în realitate reproductibiliatea internă reflectă dispersia/variabilitatea rezultatelor în activitatea de zi-de-zi din laborator.

Practic, pentru metode noi introduse în activitatea laboratorului, încercarea pentru reproductibilitatea internă se realizează, pentru diferite concentraţii, sub forma unei serii de 20 - 30 măsurări, una sau două măsurări pe zi, repetate timp de minim 20 zile, pe eşantioane de materiale utilizate pentru controlul de calitate cotidian (ser de control), dar să cuprindă în acest interval două sau mai multe schimbări de eşantioane de reactivi şi de calibratori. Din aceste date se calculeză valoare medie $\overline{x}$, abatera standard experimentală SD şi coeficientul de variaţie CV. În general reproductibilitatea internă a laboratorului se exprimă prin valoarea CV obţinută.

Pentru procesele de rutină se recomandă ca reproductibilitatea internă a

laboratorului, să se calculeze ca un parametru caracteristic, SD sau CV, pe baza datelor înregistrate în baza de date rezultate din controlul intern de calitate (QC) realizat pe o perioadă de cel puţin şase luni utilizând acelaşi material de control. Abordând în acest mod se cumulează date care reflectă contribuţia modificării unor factori cum ar fi: mentenanţă echipamentului, calibrări, schimbarea loturilor de reactivi, operatori, condiţiile de mediu etc; ori, neabordând în acest mod, efectul modificării acestor factori nu apare în cuantificarea prin repetabilitate. Pentru evaluarea componentei de incertitudine datorată preciziei de măsurare, vezi secţiunile 3.3 şi 3.4, se recomandă folosirea cuantificării preciziei obţinute în acest mod, din datele stocate prin controlul intern de calitate.

Precizia metodei analitice, parametru al dipersiei valorilor măsurărilor, se exprimă prin intermediul abaterii standard experimentală sau prin abaterea standard relativă. Atât repetabilitatea cât şi reproductibilitatea pot fi, în general, dependente de concentraţia de analit, deci trebuie să fie determinate pentru un număr de niveluri de concentraţii, dar această dependenţă între precizie şi concentraţie trebuie să fie determinantă numai în caz că este relevantă. Mai potrivit decât abatera standard experimentală, pentru o exprimare cantitativă a preciziei, este deviaţia standard relativă (sub formă de CV), deoarece este o valoare mult mai constantă pe o plaje de variaţie a concentraţiei.

Matricea (celelalte componente prezente în probă pe lângă analitul de interes) pentru probele biologice de analizat în laborator, de exemplu pentru glucoză, poate fi: sânge integral, ser, plasmă, urină sau lichid spinal.

Pentru testarea preciziei unei metode analitice este necesar să se utilizeze un material de test care să aibă matricea cât mai apropiată de cea a probei biologice. Astfel de materiale de test pot fi: soluţii standard, soluţii/seruri de control, pool-uri de seruri de pacient sau probe primare de pacient. Numărul de materiale de test utilizat pentru verificarea unei metode depinde de concentraţiile care sunt critice în decizia medicală pentru acel tip de analiză medicală. În general, sunt selectate 2-3 materiale de test care au concentraţii de analit la nivelurile importante pentru decizie medicală. Un nivel de decizie medicală reprezintă o concentraţie la care interpretarea medicală a rezultatului testului ar putea fi critică. De exemplu, pentru colesterol niveluri de decizie medicală sunt: 200 mg/dL şi 240 mg/dL [21]. În schimb, glucoza este interpretată tipic la diferite niveluri de decizie medicală cum ar fi: 50 mg/dL pentru hipoglicemie; 120 mg/dL pentru un test rapid; 160 mg/dL pentru un test de toleranţă la glucoză; 300 mg/dL pentru monitorizarea pacienţilor diabetici. Pentru majoritatea analiţilor de interes într-un laborator medical, recomandări pentru aceste niveluri de decizie se găsesc la
http://www.westgard.com/decision.htm.

La fel, ca la noţiunea de exactitate unde pentru evaluarea erorii sistematice s-a introdus noţiunea de inexactitatea care se exprimă prin valoarea deplasării, şi pentru noţiunea de precizie s-a introdus noţiunea de **imprecizie**. Este mai intuitiv utilizarea noţiunii de imprecize care se exprimă prin valoarea deviaţiei standard experimentală, SD. Aceasta pentru că atunci când dispersia este ridicată, SD are

valoare mare deci imprecizia este mare, iar când dispersia este redusă, SD are valoare mică deci imprecizie mică, ceea ce nu este cazul când se utilizeză noţiunea de precizie; la o precizie ridicată corespunde SD de valoare mică, iar la o precizie redusă corespunde o valoare mare pentru SD.

Repetabilitatea şi reproductibilitatea internă sunt două reprezentări extreme ale preciziei în cadrul unui laborator; apropierea cât mai strânsă între cele două valori, ale repetabilităţii şi reproductibilităţii interne, reflectă o robusteţe bună a metodei analitice. Diferenţa dintre reproductibilitate faţă de repetabilitate se explică prin faptul că reproductibilitatea este o repetabilitate în timp, deci cu modificarea în timp a unor parametrii ai procesului de măsurare.

3. **Reproductibilitatea** - exprimă precizia în condiţii de reproductibilitate, adică în condiţii în care rezultatele testului se obţin: cu aceeaşi metodă, pe elemente identice de testat, în laboratoare diferite, cu loturi diferite de reactivi, pe echipamente diferite, cu operatori diferiţi (acestea fiind condiţii prevăzute pentru studii comparative între laboratoare, deci formal se exclud variaţiile în funcţie de timp). Reproductibilitatea trebuie măsurată pe baza dispersiei rezultatelor obţinute în aceste condiţii de intercomparabilitate. Abatera standard de reproductibilitate, S_R, se determină din deviaţiile standard pentru fiecare nivel de concentraţie, din măsurările efectuate pe materialele de referinţă de operatori diferiţi, pe diferite echipamente, de la diferite laboratoare participante în studiul comparativ. Scopul determinării reproductibilităţii este de a verifica dacă o metodă va furniza aceleaşi rezultate în laboratoare diferite, presupunând că metoda va fi utilizată în diferite laboratoare.

Modul cum în rezultatele măsurărilor, ale unui proces de măsurare, se reflectă parametrii de exactitate şi precizie este reprezentat grafic în Figura 2.8. În această figură, pentru o metodă de măsurare, sunt reprezentate trei regiuni (posibile) de funcţionare corespunzătoare celor trei intervale ①, ② şi ③, reprezentate corelat în (domeniul) timp şi în domeniul de frecvenţă (densitate de probabilitate). Pentru intervalul ① măsurările sunt reprezentate echilibrat în jurul valorii medii $\overline{x}$, ceea ce se reflectă în domeniul frecvenţă printr-o curbă de distribuţie de probabilitate centrată în jurul valorii medii. În intervalul ②, metoda de măsurare este afectată în funcţionare de o eroare sistematică ceea ce se reflectă printr-o deplasare (bias) atât pentru reprezentarea în timp cât şi pentru reprezentarea în frecvenţă. Intervalul ③ corespunde unui proces de măsurare cu o dispersie foarte pronunţată.

2.3.3 Acurateţea

Acurateţea (engl - accuaracy, fr - exactitude), care este o noţiune calitativă, ca exactitatea şi precizia, exprimă gradul de concordanţă între rezultatul x al unei măsurări individuale şi valoarea(convenţional) adevărată, a. Rezultă că pentru noţiunea de acurateţe se poate utiliza exprimarea dată prin relaţia (2.8),

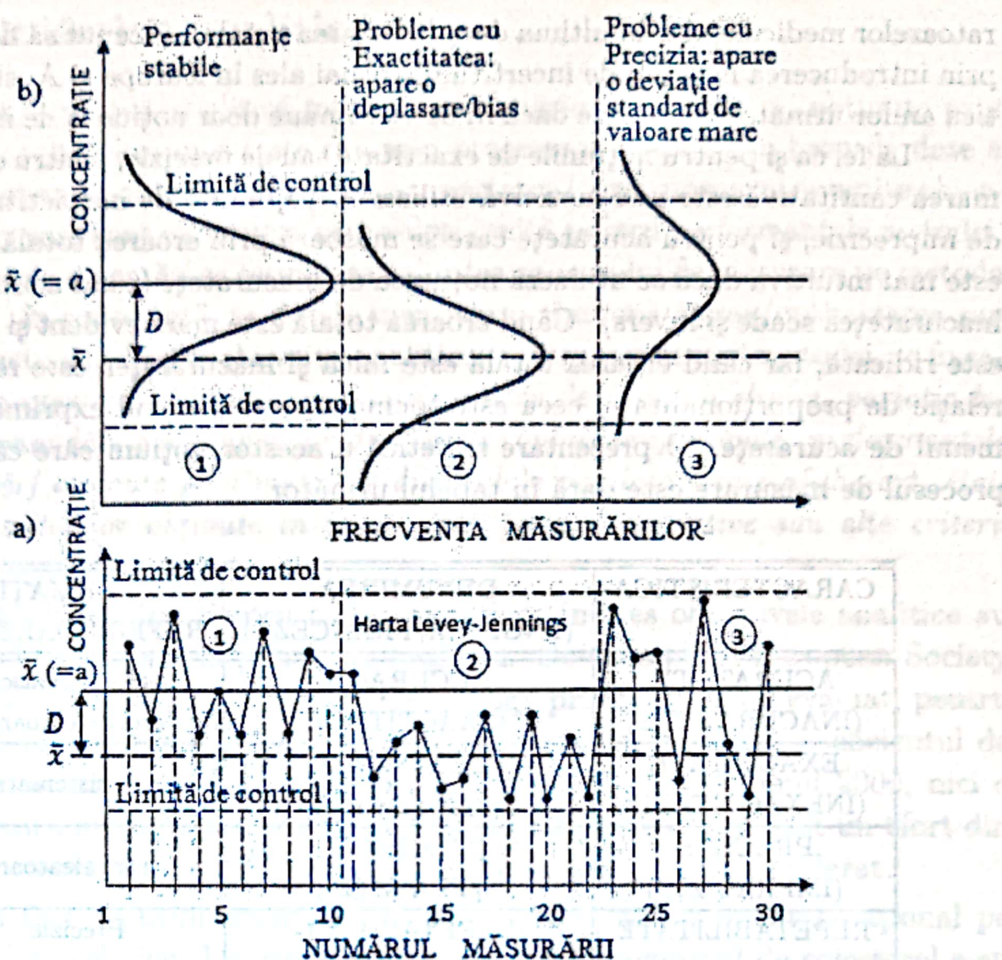


Figura 2.8 **Corespondenţa între reprezentările în domeniul timp (a) şi domeniul frecvenţă (b) pentru măsurările efectuate pe o metodă analitică pentru trei cazuri de fucţionare**

$\epsilon = x - a$, adică acurateţea poate fi exprimată cantitativ prin eroarea totală ϵ, care se compune din eroarea sistematică şi eroarea aleatorie, $\epsilon = \epsilon_s + \epsilon_a$, deci este determinată atât de efectele sistematice cât şi de efectele aleatorii, Figura 2.4. *Acurateţea este o abordare combinată a noţiunilor de exactitate şi precizie.*

O estimare pentru eroarea totală ϵ, în funcţie de eroarea sistematică (măsurată prin deplasarea D) şi de eroarea aleatorie (cuantificată prin abaterea standard experimentală s), se obţine prin relaţia

$$\epsilon = s \cdot z + |D| \qquad (2.20)$$

Valoarea erorii totale obţinute poate fi mai mare decât valoarea calculată cu relaţia (2.20) cu o probabilitate de 31,75% când $z = 1$, mai mare decât valoarea calculată cu relaţia (2.20) cu o probabilitate de 4,56% când $z = 2$ şi mai mare decât valoarea calculată cu relaţia (2.20) cu o probabilitate de 1% când $z = 2,50$ (vezi Tabelul 1.2 şi Figura 2.2).

Eroarea totală a fost şi este încă o noţiune utilizată curent în practica labo-

ratoarelor medicale, dar în ultima decadă eroarea totală a început să fie substituită prin introducerea noţiunii de incertitudine (mai ales în Europa şi Australia); practica anilor următori va decide dacă în uz va rămâne doar noţiunea de incertitudine.

La fel ca şi pentru noţiunile de exactitate sau de precizie, pentru care în exprimarea cantitativă este mai intuitivă utilizarea noţiunilor de inexactitate respectiv de imprecizie, şi pentru acurateţe care se măsoară prin eroarea totală, exprimarea este mai intuitivă dacă se utilizeză noţiunea de inacurateţe (când acurateţea creşte inacurateţea scade şi invers). Când eroarea totală este mare evident şi inacurateţea este ridicată, iar când eroarea totală este mică şi inacurateţea este redusă, deci o relaţie de proporţionalitate, ceea este tocmai invers în cazul exprimării prin termenul de acurateţe. O prezentare sintetică a acestor noţiuni care caracterizează procesul de măsurare este dată în tabelul următor

CARACTERISTICA	DENUMIREA (ENGLEZĂ/FRANCEZĂ)	INFORMAŢII REFERITOARE LA
ACURATEŢE (INACURATEŢE)	ACCURACY /EXACTITUDE	Erori sistematice şi erori aleatoare
EXACTITATE (INEXACTITATE)	TRUENESS(BIAS) /JUSTESS	Erori sistematice
PRECIZIE (IMPRECIZIE)	PRECISION /FIDÉLITÉ	Erori aleatoare
REPETABILITATE	REPETABILITY /REPETABILITÉ	Precizie intra-laborator
REPRODUCTI-BILITATE	REPRODUCTIBILITY /REPRODUCTIBILITY	Precizie între laboratoare

• **Robusteţea** (unei metode analitice) - măsură a capacităţii sale de a genera rezultate neafectată la variaţii mici, dar controlate, în parametrii metodei; în general se determină care dintre parametrii, prin variaţiile sale, are efectul cel mai important. În analiza de rutină, o robusteţe ridicată a unei metode se reflectă în producerea unor variaţii nesemnificative sau acceptabile asupra exactităţii şi preciziei la modificări ale parametrilor (condiţii de mediu, presiunea apei, lot de rectivi, operator etc). Uzual, robusteţea metodei este evaluată pe parcursul dezvoltării metodei, de obicei la laboratorul de origine, deci validarea completă a metodei nu trebuie să includă neapărat testarea robusteţei. O apreciere a robusteţei se poate obţine prin evaluarea diferenţei dintre repetabilitatea şi reproductibilitatea internă.

2.3.4 Obiective analitice

Pentru o metodă analitică interpretarea mărimilor statistice, obţinute prin procesarea rezultatelor unor teste sau prin procesarea datelor din baza de date a controlului intern de calitate, se face prin raportarea/compararea cu anumite obiective analitice, care sunt exprimate prin valori limită pentru performanţele metodei. În urma acestei comparări se estimează calitatea procesului de măsurare pe metoda respectivă şi, în consecinţă, se decide menţinerea, îmbunătăţirea/optimizarea sau eliminarea metodei. Aceste obiective analitice, pentru parametrii metodei, se fixează sub forma unor valori limită acceptate pe baza de: *criterii clinice, variaţia biologică, recomandări ale grupurilor de experţi, opinii profesionale, performanţele tehnice de vârf obţinute prin metodele disponibile pe piaţă (state-of-the-art, état-de-l'art), rezultatelor obţinute în urma unor teste comparative sau alte criterii potrivite* [4] [5] [9] [10] [11].

• **Criterii clinice** Pentru câţiva analiţi de interes obiectivele analitice au fost stabilite la nivel internaţional sau naţional. De exemplu, l'European Society of Cardiology şi American Colleage of Cardiology prin consens au evaluat, pentru concentraţia de troponină serică sau plasmatică, o valoare pentru coeficientul de variaţie inferior limitei de 10%. La fixarea acestui consens, în anul 2000, nici o metodă analitică nu permitea atingerea acestei ţinte, ceea ce a iniţiat un efort din partea producătorilor de echipamente pentru realizarea acestui deziderat.

Pentru foarte puţini analiţi există valori limită fixate la nivel naţional pe baza unor criterii clinice. De exemplu, în USA, prin programul de colesterol s-au fixat valorile limită date în tabelul următor:

Parametru	Imprecizia, CV[%]	Inexactitatea, D[%]	Inacurateţea, ϵ [%]
Trigliceride	5	5	15
Colesterol total	3	3	9
Colesterol LDL	4	4	12

• **Variaţia biologică.** Foarte frecvent, sunt recomadate limite (pentru: inexactitate, D %; imprecizie, CV %; inacurateţe, ϵ %) obţinute printr-o proporţionalitate cu valorile variaţilor biologice intra-individuale, valori exprimate prin CV_I (coeficientul de variaţie intra-individual, dedus din variaţia/dispersia biologică intra-individual pentru măsurandul/analitul specificat) şi/sau printr-o proporţionalitate cu valorile variaţiilor biologice inter-individuale exprimate prin CV_g (coeficientul de variaţie inter-individual dedus din variaţia/dispersia biologică inter-individual pentru măsurandul/analitul specificat) şi/sau combinate ale acestor două. Raţiunea utilizării ca limite, pentru evaluarea unei metode de măsurare, a unor valori proporţionale cu valorile variaţiilor biologice se bazează pe faptul că aceste valori biologice sunt relevante în decizia clinică. De exemplu, în [4] sunt specificate pentru calculul acestor limite, corespunzătoare la trei niveluri de performanţă (dorit, optimal şi minimal), relaţiile din tabelul următor:

Performanţa	Limită optimală ($_{op}$)	Limită dorită ($_{do}$)	Limită minimală ($_{min}$)
Imprecizia	$CV_{op} = 0,25\, CV_I$	$CV_{do} \leq 0,5\, CV_I$	$CV_{min} \leq 0,75\, CV_I$
Inexactitatea	$D_{op} \leq 0,125\sqrt{CV_I^2 + CV_g^2}$	$D_{do} \leq 0,25\sqrt{CV_I^2 + CV_g^2}$	$D_{min} \leq 0,375\sqrt{CV_I^2 + CV_g^2}$
Inacurateţea	$\epsilon_{op} \leq 1,65 CV_{op} + D_{op}$ pentru $p < 0,05$	$\epsilon_{do} \leq 1,65 CV_{do} + D_{do}$ pentru $p < 0,05$	$\epsilon_{min} \leq 1,65 CV_{min} + D_{min}$ pentru $p < 0,05$

Cu valorile pentru CV_I şi CV_g, în tabelul de mai jos, sunt calculate valorile limită pentru pentru imprecizie, inexactitate şi inacurateţe corespunzătoare celor trei niveluri de performanţă pentru doi analiţi: calciu şi acid uric. O bază de date, actualizată permanent, cu valorile limită specificate pentru peste 300 de măsuranzi este accesibilă la http://www.westgard.com/biodatabase1.htm sau la http://www.westgard.com/europe.htm.

Analitul	Variaţia biologică		Limita dorită			Limita optimală			Limita minimală		
	CV_I	CV_g	CV%	D%	ϵ%	CV%	D%	ϵ%	CV%	D%	ϵ%
CALCIU	1,9	2,8	1	0,8	2,4	0,5	0,4	1,2	1,4	1,3	3,6
ACID URIC	8,6	17,2	4,3	4,8	11,9	2,2	2,4	6,0	6,5	7,2	17,9

• **Performanţe tehnice de vârf.** De asemenea, valori limită pentru obiective analitce, se pot stabili pe baza performanţelor de vârf ("state-of-the-art") ale tehnicilor utilizate în laboratorele medicale. În [17] se pot găsi, pentru 116 analiţi, astfel de valori limită stabilite în urma analizei performanţelor a multor bune laboratore medicale din Franţa, propunându-se în final ca limite valorile atinse de primele 50% dintre aceste laboratoare. Conform acestui mod de fixare a obiectivelor analitice, de exemplu, valorile pentru calciu şi acid uric sunt prezentate în tabelul următor (numerotarea explicativă care urmează corespunde numărului de coloană din tabel):

1. Denumire analit şi unitate de măsură.
2. Domeniul de măsurare, corespunde (orientativ) cu domeniul de liniaritate pentru tehnicile utilizate.
3. Domeniul de referinţă corespunde intervalului în care se situează, uzual, valorile obţinute prin tehnicile curente.
4. Niveluri. Nivelul coborât (C) se situează aproape de limita de jos a valorilor de referinţă. Nivelul mediu (M) se situează aproape de limita superioară a valorilor de referinţă. Nivelul ridicat (R) se situează la limita superioară de liniaritate a tehnicilor utilizate (valori similare pentru astfel de niveluri sunt specificate şi în http://westgard.com/decision.htm)

5. Intervalul (de variaţie în %) reprezintă plaja de variaţie posibilă, pentru valoarea pentru materialul de control folosit, în testara metodei curente faţă de valorile specificate pe coloana 4 din acest tabel.

6, 7, 8 şi 9 Valorile limită pentru respectiv precizie/imprecizie (repetabilitate, reproductibilitate internă), exactitate/inexactitate şi acurateţe/inacurateţe.

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Analitul	Domeniu de măsurare (orientativ)	Domeniu de referinţa (adulţi)	Niveluri	Interval %	Repetabilitate %	Reproductibilitate %	Exactitate %	ϵ %
			C/M/R		C/M/R	C/M/R	C/M/R	C/M/R
Calciu mmol/L	0,50-5,00	2,25-2,60	1,80/2,40/3,40	4	1,2/1,2/1,2	1,6/1.6/1,6	1,7/1,7/1,7	2,3/2,3/2,3
Acid uric µmol/L	10-1000	150-500	150/300/450	15	2,7/2,4/2,1	3,6/3,2/2,8	7,1/6,2/5,3	8,0/7,0/6,0

În acest tabel inacurateţea (eroarea totală) este calculată cu relaţia:

$$\epsilon\,\% = 2\sqrt{\text{exactitatea}^2 + \text{reproductibilitatea}^2}$$

• **Testarea de competenţă (proficiency testing).** Pentru rezultatul unei analize este necesar a se cunoaşte care este valoarea erorii totale admise, TE_a (Allowable Total Error), valoare sub care pentru eroarea totală obţinută a unei analize se asigură o interpretarea clinică corectă. În acest sens, trebuie să se stabilească valoarea erorii totale admise la nivelul de decizie medicală respectiv. Pentru clinician, are mai puţină importanţă cât din valoarea erorii este datorită efectului sistematic şi cât datorită efectului aleatoriu, importantă este valoarea erorii obţinute prin măsurare, care trebuie să fie mai mică decât TE_a, şi pe baza acestei valori se ia decizia în interpretarea medicală.

Valori de erori totale, ce se pot considera admisibile, TE_a, pot fi determinate prin programe între laboratoare de testare de competenţă; prin aceste programe în general se obţine o valoare centrală "valoare ţintă" şi un interval în jurul acestei valori, interval care se consideră acceptabil. Prin aceste programe de competenţă se trimit acelaşi tip de probă la mai multe laboratoare participante, fiecare laborator efectuează doar o singură măsurarea, apoi prin procesarea acesteia împreună cu rezultatele de la celelalte laboratoare participante se determină intervalul admisibil de valori în jurul unei valori centrale. Deoarece într-un laborator participant se efectuează doar o singură măsurare, în valoarea obţinută nu este separată eroarea sistematică de cea aleatorie, deci rezultatul conţine o eroare totală, la fel ca şi pentru o analiză a unei o probe biologice. Iată de ce doar eroarea totală poate fi utilizată ca obiectiv analitic pentru analizele în serie/de rutină (tendinţa actuală este ca interpretarea medicală să se realizeze cu valoarea incertitudinii extinse şi nu cu eroarea totală! vezi cap 3).

O bază de date completă pentru erori totale admisibile, generată de CLIA (Clinical Laboratory Improvement Amendaments) pentru laboratoarele din USA,

poate fi accesată la http://www.westgard.com/clia.htm. În această bază valorile limită pentru TE_a sunt prezentate în una din următoarele trei forme Anexa 6, [24]:

1. *Valoarea absolută de concentrație limită*, de exemplu, pentru calciu criteriu este: valoarea țintă ± 1 mg/dL. Pentru o concentrație de 10 mg/dL testul este considerat corect în intervalul de ± 1 mg/dL, care în procente corespunde cu ±10%; pentru o concentrație de 7,5 mg/dL testul este considerat corect în intervalul de ± 1 mg/dL, care în procente corespunde cu ±13%; pentru o concentrație de 11 mg/dL testul este considerat corect în intervalul de ± 1 mg/dL, care în procente corespunde cu ±9%.

2. *Procentaj*, de exemplu, pentru colesterol criteriul este: valoarea țintă ±10%. Pentru o concentrație la nivelul clinic de decizie de 200 mg/dL, un test este considerat corect în intervalul de ± 20 mg/dL; 10% → (200/100) × 10 = 20. În puține cazuri sunt specificate două limite pentru valoarea erorii totale admise (o limită absolută și un procentaj), cum este cazul pentru glucoză: valoarea țintă ± 6 mg/dL sau valoarea țintă ±10%; în acest caz se va alege ca limită admisă valoarea care este mai mare. De exemplu, la nivelul de 60 mg/dL, sau mai jos, valoarea pentru eroarea totală admisă pentru glucoză este cea de 6 mg/dL, care este mai mare (sau egală) decât valoarea calculată cu 10%; la nivelul de 120 mg/dL eroarea totală admisă este de 12,5 mg/dL care reprezintă 10% și nu valoarea de 6 mg/dL care este mai mică.

3. *Abatere standard*, de exemplu pentru hormon de stimulare tiroidian: valoare țintă $\pm 3SD$.

La o metodă analitică de măsurare, cu inexactitatea de valoare ϵ_s, cu imprecizia ϵ_a pentru eroarea totală obținută, $\epsilon = \epsilon_a + \epsilon_s$, trebuie îndeplinită următoarea condiție în raport cu eroarea totală admisă, TE_a

$$\epsilon = \epsilon_a + \epsilon_s \leq TE_a \qquad (2.21)$$

2.4 VALIDAREA METODELOR ANALITICE

Validarea metodei [3] se defineşte ca fiind:

(a) procesul prin care laboratorul îşi stabileşte caracteristicile de performanţă, limitele metodei şi, prin care, se identifică factorii care influenţează aceste caracteristici precum şi gradul de influenţă al acestor factori; sau

(b) procesul prin care laboratorul verifică dacă metoda este adecvată scopului în care va fi utilizată.

Un laborator trebuie să îşi valideze o metodă de lucru când este necesar să stabilească dacă parametrii caracteristici ai metodei sunt adecvaţi pentru problemele analitice urmărite, cum ar fi:

- atunci când introduce în lucru o metodă pe care nu a mai utilizat-o în trecut;
- atunci când trebuie implementate îmbunătăţiri ale metodei ca urmare a introducerii unui tip de reactiv îmbunătăţiţi de către producătorul reactivului (ex. generaţie nouă de reactivi), schimbării echipamentului, schimbării producătorului reactivilor;
- atunci când metoda este extinsă pentru a fi utilizată şi pentru un alt scop decât cel de până în prezent (ex. extindera utilizării metodei de determinare a glucozei din ser şi pentru determinarea glucozei din urină);
- atunci când rezultatele controlului de calitate indică o modificare a performanţelor metodei;
- pentru a demonstra echivalenţa a două metode utilizate în laborator (ex. o metodă nouă introdusă faţă de metoda utilizată până în prezent, sau faţă de o metodă standardizată);
- pentru a demonstra echivalenţa metodei cu instrumente diferite;
- atunci când se introduce o metodă validată într-un alt laborator, dar se utilizează echipament sau operator diferit.

Chiar şi atunci când se introduc în lucru metode standardizate sau publicate în literatura de specialitate este necesară o validare pentru a stabili modul în care laboratorul reuşeste să obţină performanţa indicată în referenţial (standard, literatură, specificaţiile producătorului date în prospectul de lucru etc.).

Actual, există tendinţa ca la instalare echipamentului să se efectueze teste de validare din partea producătorului/distribuitorului echipamentului. Aceste teste efectuate nu trebuie preluate şi considerate automat valide de către laborator. Laboratorul trebuie să analizeze aceste teste, să proceseze statistic datele colectate şi să aibă responsabilitatea interpretărilor şi concluziilor.

2.4.1 Condiţiile tehnice în care se realizează metoda

Validarea metodei trebuie să se realizeze în următoarele condiţii:

- Responsabilul de validare trebuie să fie o persoană competentă;
- Condiţiile de mediu cerute de specificaţiile metodei(ex. specificaţiile date de producătorul echipamentului, reactivilor, literatura de specialitate) trebuie să fie satisfăcute;
- Echipamentul de măsurare trebuie să fie în bună stare de funcţionare, trebuie să fie etalonat înainte de validare (când este cazul) şi calibrat corespunzător;
- Reactivii sunt adecvaţi lucrului cu echipamentul care urmează a fi validat şi sunt în termen de valabilitate;
- Materialele de referinţă utilizate în procesul de validare trebuie să fie adecvate metodei care urmează a fi validată (ex. tabelele de valori ale concentraţiilor analiţilor serului de control intern au valori specifice analizorului şi principiului chimic ce urmeză a fi utilizate) şi trebuie să fie în termen de valabilitate

1. Specificarea metodei cuprinde:

- *Denumirea încercării* (ex. CRP din ser prin turbidimetrie)
- *Măsurand* (ex. WBC; RBC etc);
- *Sursa metodei* (ex. Metodă dezvoltată în laboratorele Abbott-SUA, nu s-a adus modificări metodei).

2. Responsabil de validare, calificat (ex. Anca Popescu - biolog).

3. Condiţiile de mediu cerute de: specificaţiile metodei, specificaţiile date de producătorul echipamentului, reactivilor, literatura de specialitate, să fie îndeplinite (ex. temperatură 21°C, umiditate 52%).

4. Echipamentul este în bună stare de funcţionare, este etalonat înainte de validare şi calibrat corespunzător. Se specifică

- *Denumire, producător, serie, nr. inventar*
- *Certificatul de etalonare* (ex.valoarea incertitudinii extinse U =?, pentru k =?)
- *Domeniul de măsurare*, conform specificaţiilor producătorului, (ex. $D_M =$ 0.07 – 20 mg/dL)

- *Curba de calibrare* (se ataşează în anexe, se specifică modul de obţinere)

- *Înregistrări de mentenanţă*

5. Reactivii utilizaţi sunt adecvaţi lucrului cu echipamentul care urmează a fi utilizat şi sunt în termen de valabilitate (ex. Reactiv Greiner, lot 6032010, expiră la data de 10/2008)

6. Materiale de referinţă utilizate în procesul de validare sunt adecvate metodei care urmează a fi validată şi sunt în termen de valabilitate (ex. când materialul de referinţă este substituit de ser de control 1 - Ser de control valori normale: Monitrol I, lot TLM 08111 cu valori în intervalul 4,4 - 6,6 mg/dL, valoare ţintă = 5,5 mg/dL, deviaţie standard $SD = 0,635$ mg/dL; 2 - Ser control valori patologice Monitrol II, lot TLM 08112 cu valori în intervalul 9.2 - 13,8 mg/dL, valoare ţintă = 11,5 mg/dL, deviaţie standard $SD = 1,329$ mg/dL; şi pentru alte valori de concentraţii dacă este cazul).

2.4.2 Parametrii caracteristici ai metodelor analitice

Informaţiile folosite pentru validarea unei metode pot fi obţinute prin testări realizate în laborator în acest scop sau din datele din baza de date rezultate din controlul intern de calitate sau din alte surse (informaţii date de producătorul reactivilor/echipamentului, literatura de specialitate, standarde de metode etc.).
Se disting trei tipuri de metode analitice în laboratoarele de analize medicale:

1. *Metode cantitative* - care furnizează un rezultat numeric, între o limită inferioară şi una superioară cunoscute, obţinut printr-o măsurare asupra unui analit (analize de biochimie, imunologie, numărare de globule).

2. *Metode calitative* - care nu furnizează o informaţie cantitativă asupra unui analit ci doar o informaţie despre prezenţă sau absenţă (pozitiv/negativ) sau, eventual, prezenţa peste un anumit nivel, cazul titrărilor (serologie virală şi parazitară).

3. *Metode semicantitative* (asimilabile celor cantitative) - care furnizează o informaţie calitativă prin extrapolarea unui rezultat cantitativ obţinut prin măsurare (analize de imunocromatografie, imunoelectroforeză, imunofluoreşcenţă). Parametrii caracteristici indicaţi pentru verificare în cadrul unui proces de validare pentru o metodă analitică din laboratorele de analize medicale conform [5] sunt prezentaţi în tabelul următor

Metode cantitative	Metode calitative	Metode semicalitative
Specificitate	Specificitate	Specificitate
Precizie: Repetabilitate Reproductibilitate internă	NA	Repetabilitate Reproductibilitate internă
Exactitate	NA	NA
Domeniu de analiză/măsurare	NA	NA
Limite: de detecţie de cuantificare	Sensibilitate diagnostică (Probabilitatea obţinerii unui rezultat pozitiv în prezenţa unui marker ţintă)	Sensibilitate diagnostică (Probabilitatea obţinerii unui rezultat pozitiv în prezenţa unui marker ţintă)
Contaminare între probe (dacă este cazul)	Contaminare între probe (dacă este cazul)	Contaminare între probe (dacă este cazul)
Liniaritate	NA	NA
Stabilitate	Stabilitate	Stabilitate
Valori de referinţă (de ex. valori normale)	NA	NA
Interferenţe	Interferenţe	Interferenţe
Robusteţe	Robusteţe	Robusteţe
Corelare cu metodă de referinţă*. Corelare cu metodă deja utilizată în laborator*	Corelare cu metodă de referinţă*. Corelare cu metodă deja utilizată în laborator*	Corelare cu metodă de referinţă*. Corelare cu metodă deja utilizată în laborator*

NA - neaplicabil; * de fiecare dată când este necesar

În continuare se va prezenta un set minim de parametri, necesar a fi verificaţi în procesul de validare pentru metodele cantitative.

Selectivitatea/specificitatea exprimă abilitatea unei metode de a determina exact şi specific analitul de interes în prezenţa altor componeţi în matricea probei.

Întâi, se studiază abilitatea metodei de identificare a analitului de inters în probe şi în materiale de referinţă prin compararea cu rezultatele aceloraşi măsurări realizate pe o metodă de confirmare. Apoi, estimarea abilităţii metodei de a măsura analitul de interes se studiază doar pe metoda de testat dar pe probe la care în mod deliberat s-a realizat interferenţă. *O metodă este specifică atunci când asigură o selectivitate de* 100%. Parametru selectivitate este aplicabil atât la metodele cantitative cât şi calitative. Pentru metodele automate de rutină asigurarea unei specificităţi se realizează prin însăşi proiectarea şi realizarea autoanalizorului. O sistematizare pentru modalitatea de confirmare a identităţii şi a selectivităţii/specificităţii este redată în tabelul următor[3]

Metode cantitative	Metode calitative	Metode semicalitative
Specificitate	Specificitate	Specificitate
Precizie: Repetabilitate Reproductibilitate internă	NA	Repetabilitate Reproductibilitate internă
Exactitate	NA	NA
Domeniu de analiză/măsurare	NA	NA
Limite: de detecţie de cuantificare	Sensibilitate diagnostică (Probabilitatea obţinerii unui rezultat pozitiv în prezenţa unui marker ţintă)	Sensibilitate diagnostică (Probabilitatea obţinerii unui rezultat pozitiv în prezenţa unui marker ţintă)
Contaminare între probe (dacă este cazul)	Contaminare între probe (dacă este cazul)	Contaminare între probe (dacă este cazul)
Liniaritate	NA	NA
Stabilitate	Stabilitate	Stabilitate
Valori de referinţă (de ex. valori normale)	NA	NA
Interferenţe	Interferenţe	Interferenţe
Robusteţe	Robusteţe	Robusteţe
Corelare cu metodă de referinţă*. Corelare cu metodă deja utilizată în laborator*	Corelare cu metodă de referinţă*. Corelare cu metodă deja utilizată în laborator*	Corelare cu metodă de referinţă*. Corelare cu metodă deja utilizată în laborator*

NA - neaplicabil; * de fiecare dată când este necesar

În continuare se va prezenta un set minim de parametri, necesar a fi verificaţi în procesul de validare pentru metodele cantitative.

Selectivitatea/specificitatea exprimă abilitatea unei metode de a determina exact şi specific analitul de interes în prezenţa altor componeţi în matricea probei.

Întâi, se studiază abilitatea metodei de identificare a analitului de inters în probe şi în materiale de referinţă prin compararea cu rezultatele aceloraşi măsurări realizate pe o metodă de confirmare. Apoi, estimarea abilităţii metodei de a măsura analitul de interes se studiază doar pe metoda de testat dar pe probe la care în mod deliberat s-a realizat interferenţă. *O metodă este specifică atunci când asigură o selectivitate de* 100%. Parametru selectivitate este aplicabil atât la metodele cantitative cât şi calitative. Pentru metodele automate de rutină asigurarea unei specificităţi se realizează prin însăşi proiectarea şi realizarea autoanalizorului. O sistematizare pentru modalitatea de confirmare a identităţii şi a selectivităţii/specificităţii este redată în tabelul următor[3]

Ce trebuie făcut...	...de câte ori	Calculare/determinare	Comentarii
Analiza de probă de analit şi de material de referinţă atât prin metoda testată cât şi prin alte metode de confirmare	1	Compararea rezultatelor obţinute de la metoda testată cu cele obţinute de la metoda de confirmare pentru a evalua abilitatea de identificare a analitului şi abilitatea de măsurare a analitului pe metoda testată	Din analiza comparării se decide dacă metoda testată este sigură /(sau nu) în funcţionare
Analiză de probe de analit ce conţin interferenţe în diferite cantităţi (doar pe metoda testată)	1	Examinarea efectului de interferenţă: creşte sau scade abilitatea de identificare şi de măsurare a analitului de interes pe metoda testată	În cazul în care identificarea sau măsurarea analitului sunt micşorate de interferenţă se trece la o dezvoltare suplimentară a metodei

7. Limita minimă de detecţie, L_D - cea mai mică valoare (cantitate, concentraţie) care poate fi detectată (cu o probabilitate statistică predeterminată) şi distinctă faţă de blanc. Când măsurările sunt făcute la nivele joase de concentraţie, de exemplu în analiză de urme, este important a se cunoaşte care este cel mai scăzut nivel de concentraţie ce poate fi detectat sigur prin metoda respectivă.

Limita minimă de detecţie se determină astfel: se măsoară zece probe independente de blanc (concentraţie zero pentru analitul de interes sau poate fi calibratorul "zero standard" din trusa de lucru a analizorului), fiecare o singură dată. Din seria de zece măsurări se determină media $\overline{x}_{\text{probă-blanc}}$ şi abaterea standard experimentală, $SD_{\text{probă - blanc}}$, iar valoare limitei minime de detecţie rezultă prin relaţia

$$L_D = \overline{x}_{\text{probă-blanc}} + 3 \cdot SD_{\text{probă-blanc}}$$

Practic şi mai simplu, decât măsurări asupra unui blanc, pentru limita minimă de detecţie, se consideră valoarea $L_D = 3 \cdot SD_Q$; SD_Q este abatera standard experimentală determinată pentru limita minimă de măsurare L_Q.

Pentru determinările calitative limita minimă de detecţie, L_D, este, de exemplu, valoarea "cut-off", care este indicată în prospectul kitului de reactiv. Dificultatea în determinarea limitei de detecţie apare datorită faptului că probabilitatea de detecţie a analitului nu are un salt brusc de la 0 (0%) la 1 (100% detecţie certă) când se trece printr-o valoare de prag. În consecinţă, limita de detecţie este considerată ca fiind acel nivel de concentraţie sub care detectarea este nesigură (< 100%). Această limită se poate determina şi prin măsurare de probe de blanc fortifiate cu diferite niveluri de concentraţie de analit. Pentru fiecare nivel de concentraţie de analit se realizează aproximativ 10 măsurări şi se determină în procente cât reprezintă numărul de răspunsuri pozitive(sau negative) faţă de numărul de probe efectuate pentru acel nivel. Se poate trasa o diagramă a valorilor procentului de rezultate pozitive(sau de negative) obţinute în funcţie

Concentraţia $\mu g/g$	Nr. de determinări	Rezultat pozitiv
200	10	10/10, (100%)
100	10	10/10, (100%)
75	10	5/10, (50%)
50	10	1/10, (10%)
25	10	0/10, (0%)

de concentraţia de analit, iar prin inspecţia acestei diagramei se deduce sub ce nivel/prag de concentraţie specificitatea metodei devine nesigură. De exemplu, în tabelul anterior o identificare pozitivă cu probabilitatea de 100% încetează sub pragul de concentraţiei de 100 $\mu g/g$ (= **cut-off**). Acest prag ("cut-off") poate varia dacă experimentul este repetat altă dată, cu diferiţi reactivi, materiale fortifiate etc.

În [21] se specifică: conform reglementările de laborator din USA verificarea limitei de detecţie este aplicabilă pentru oricare metodă analitică modificată sau dezvoltată de laborator (în house). Dar, termenul "este aplicabilă" înseamnă că verificarea sau stabilirea limitei de detecţie este cerută numai de acele metode analitice unde această performanţă caracteristică este critică, ca de exemplu: medicină legală sau teste de terapie medicamentoasă; PSA şi alţi markeri tumorali; TSH şi teste imunologice similare, dar nu este aplicabilă pentru analize de glucoză, colesterol, enzime şi alţi analiţi unde domeniul de măsurare este mult mai relevant pentru intrepretare unui test.

Limitele de măsurare. Aceste limite sunt:

8. Limita minimă de măsurare/cuantificare, L_Q - este cea mai mică valoare (cantitate, concentraţie) care poate fi determinată cantitativ cu un nivel acceptabil al repetabilităţii şi exactităţii (cu calibratori); sub această valoare o metodă poate furniza doar date calitative. Această limită se determină prin *testarea mai multor probe preparate*, cu concentraţii mici, apropiate (sau egală) de limita minimă de măsurare specificată de producătorul kitului de reactivi. Aceste probe cu concentraţii mici se pot obţine din calibratorul sau serul pentru controlul intern de calitate, cu concentraţia cea mai mică, prin diluţii conform schemei: $100 + 0; 90 + 10; \ldots; 20 + 80; 10 + 90; 0 + 100$, în total 11 probe.
Pentru fiecare probă se realizează o serie de zece teste, apoi pentru fiecare serie se determină: valoarea medie $\overline{x}$, abaterea standard experimentală SD şi coeficientul de variaţie CV; aceste date se ataşază în anexele raportului de validare. Se consideră ca limită minimă de măsurare L_Q concentraţia probei cu valoarea cea mai mică şi pentru care abaterea standard relativă (RSD_Q) are o valoare acceptabilă, de exemplu $CV < 10\%$. În determinarea limitei L_Q se impun următoarele două observaţii:

a) Dacă limita minimă a curbei de calibrare (blanc-point), L_{Cm}, este mai mare decât limita minimă de măsurare, $L_{Cm} > L_Q$, atunci trebuie acordată atenţie modului în care se realizează extrapolarea. În acest caz dacă se utilizează un analizor automat, atunci limita minimă de măsurare pe care o poate obţine laboratorul este dată de limita minimă a curbei de calibrare, $L_Q = L_{Cm}$.

b) Dacă limita minimă a curbei de calibrare (blanc-point) este dată de valoarea zero a concentraţiei, $L_{Cm} = 0$, atunci limita minimă de măsurare a analitului, L_Q, va fi probabil mai mare dacât zero şi trebuie determinată ca mai sus *dacă această limită este relevantă din punct de vedere clinic* (ex. este relevant să se cunoască limita minimă de detecţie în cazul markerilor de diagnostic post - operator cum sunt markerii tumorali sau markerii de antirejecţie a transplantului).

Valoarea determinată a limitei minime de măsurare poate fi considerată ca limita inferioră (L_I) pentru domeniul de măsurare al aparatului dacă această limită inferioară nu este specificată de producător.

9. Limita maximă de măsurare, L_M, - este cea mai mare valoare (cantitate, concentraţie) care poate fi determinată cantitativ cu un nivel acceptabil al preciziei şi exactităţii (cu material de referinţă).

Această limită se determină prin testarea mai multor probe preparate cu concentraţii mari, aproape de limita maximă de măsurare specificată de producătorul kit-ului de reactivi. Pentru fiecare probă se realizează o serie de zece teste, apoi cu datele din fiecare serie se calculează valòarea medie şi abaterea standard experimentală; datele culese se ataşază în anexele raportului de validare. Se consideră ca limită maximă de măsurare proba cu cea mai mare concentraţie şi pentru care deviaţia standard relativă are o valoare acceptabilă. În determinarea limitei L_M se impun următoarele două observaţii:

a) În cazul în care curba de calibrare a analizorului este liniară, atunci limita maximă de măsurare este egală cu valoarea limita maximă (L_{LM}) a caracteristicii liniare, $L_M = L_{LM}$ (în general, liniaritatea analizorului se asigură până la limita superioară, L_S, a domeniului de măsurare, D_M, deci $L_{LM} = L_S$).

b) În cazul în care curba de calibrare a analizorului nu este liniară şi după punctul de calibrare maxim, L_{CM} (de exemplu determinări imunologice), atunci trebuie acordată atenţie modului în care se realizează extrapolarea. În acest caz dacă se utilizează un analizor automat, atunci limita maximă de măsurare pe care o poate obţine laboratorul este dată de limita maximă a curbei de calibrare, $L_M = L_{CM}$.

10. Domeniul de măsurare, D_M - este intervalul între nivelul inferior, L_I, şi cel superior, L_S, de concentraţie de analit, în care se demonstrează precizie, exactitate (şi liniaritate) cerute de aplicaţie.

Producătorul specifică pentru domeniul de măsurare printr-o limită inferioară şi o limită superioară, $D_M = [L_I, L_S]$. Dacă domeniul de măsurare nu este specificat de producător acesta trebuie determinat conform procedului expus (vezi pagina 46).

Valorile pentru limita inferioară şi pentru limita superioară se pot fixa şi în felul următor: ca limită inferioră se va considera limita minimă de măsurare/(detecţie), $L_I = L_Q$, iar ca limită superioară se va considera limita maximă de măsurare, $L_S = L_M$, dar între aceste limite caracteristica de transfer trebuie să fie liniară.

Dacă domeniul de măsurare este specificat de producător, prin limita inferioară şi limita superioară, nu mai este necesar să se determine aceste limite ci doar să se verifice realizarea acestor valori. Pentru verificare se prepară două concentraţii a căror valori sunt egale sau foarte apropiate de limita inferioară şi de limita superioară, fiecare concentraţie se măsoară (după ce analizorul a fost calibrat) de trei ori şi se efectuează media; se analizează dacă aceste valori medii obţinute coincid cu valorile date pentru limita inferioară respectiv superioară ale domeniului specificat de producător. Pentru verificarea liniarităţii se prezintă dreapta de calibrare în intervalul $[L_I, L_S]$.

Laboratorul trebuie să arate că domeniul de măsurare, D_M, *include domeniul de referinţă biologic*, D_R (domeniul de valori normale pentru populaţia de pacienţi care se adresează laboratorului în mod obişnuit), $D_R \subset D_M$, dar, mai mult, acoperă şi domeniul $D_{R'}$ al valorilor normale completat cu valorile patologice, adică şi $D_{R'} \subset D_M$. Dacă unele valori pentru probe patologice depăşesc limita superioară L_S, atunci pentru măsurarea acestor probe se fac diluţii. Valorile pentru D_R se determină din literatura de specialitate sau se calculează statistic pe eşantionul de populaţie (normală) care se adresează laboratorului.

11. Liniaritatea. Curba de calibrare, ataşată în anexele raportului de validare, definită pe domeniul $D_C = (L_{Cm}, L_{CM})$, între limita minimă de calibrare ①, L_{Cm} (blanc-point) şi limita maximă de calibrare ②, L_{CM} (set-point), este liniară, vezi Figura 2.11. *De regulă analizoarele automate realizează o liniaritate şi după limita maximă de calibrare (set-point), până la limita de liniaritate maximă*, L_{LM}. În general, această limită de liniaritate maximă este egală cu limita superioară L_S a domeniului de măsurare, $L_{LM} = L_S (= L_M)$. Şi în partea inferioară a caracteristicii de transfer există de regulă liniaritate până la valoarea $L_I (= L_Q)$ astfel că se poate considera liniaritate pe întreg domeniul de măsurare. Rezultă că domeniul de măsurare este egal cu domeniul de calibrarea sau include pe acesta $D_C \subseteq D_M$, iar între cele trei domenii, de regulă, există următoarea relaţie de incluziune $D_R \subset D_C \subseteq D_M$. În cazul în care se doreşte verificarea liniarităţii caracteristicii de transfer (curba de calibrare) a analizorului se procedează ca în secţiunea 2.3.1-Liniaritate şi se calculează valoarea coeficientului de corelaţie, relaţia (2.12), sau se verifică orizontalitatea la ordonata de valoare 1 a caracteristicii $(x_i, y_i/x_i)$ sau a caracteristicii $(log\ x_i, y_i/x_i)$.

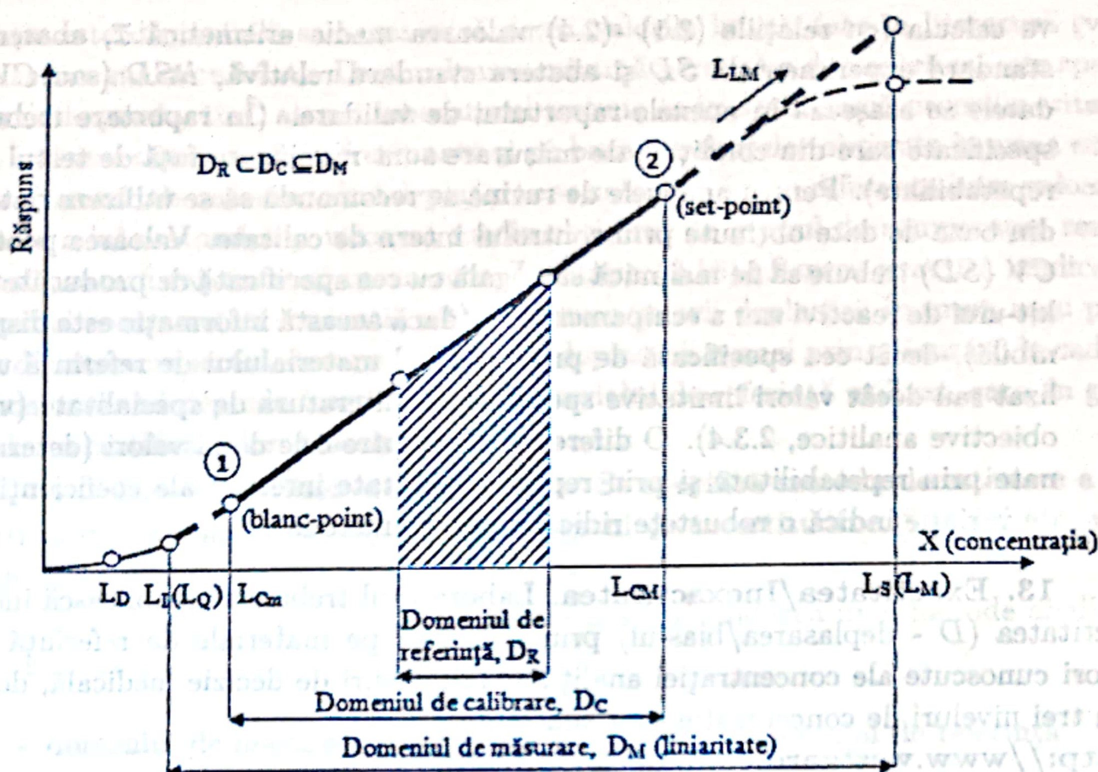


Figura 2.9 **Caracteristica de transfer cu poziţionarea posibilă a limitelor L_D, $L_I(\approx L_Q)$, L_{Cm}, L_{CM}, L_{LM}, $L_S(\approx L_M)$ şi a domeniilor de referinţă, D_R, de calibrare, D_C şi de măsurare, D_M.**

12. Precizia/Imprecizia. Pentru stabilirea impreciziei laboratorul trebuie să determine repetabilitatea şi reproductibilitatea (internă) pe materiale de testare uzuale accesibile cum sunt: soluţii standard, materiale de control (pentru controlul intern) şi pe probe de pacienţi, la niveluri de decizie medicală, două sau trei niveluri de concentraţie sunt suficiente (http://www.westgard.com/decision.htm).

a) **Repetabilitatea.** Se poate realiza pe un pool de seruri de pacienţi, pe un ser de control sau pe un ser de pacient, mai multe măsurări, una după alta, în aceleaşi condiţii, cu acelaşi echipament, reactivi, operator, într-un interval de timp scurt şi va calcula (cu relaţiile (2.1) - (2.4): valoarea medie aritmetică $\overline{x}$, abaterea standard experimentală SD şi abaterea standard relativă, RSD (sau CV), datele obţinute se ataşează în anexă. Valoarea pentru CV (SD) trebuie să fie mai mică sau egală cu cea specificată de producătorul kit-ului de reactivi sau a echipamentului (dacă această informaţie este disponibilă) sau a unor valori limită date în literatura de specialitate (vezi obiective analitice, 2.3.4)

b) **Reproductibilitatea internă** (precizia intra-laborator, vezi pagina 54). Se măsoară mai multe replici, pe un pool de seruri de control, în aceleaşi condiţii, cu acelaşi echipament, reactivi, operator, dar în zile diferite şi se

va calcula (cu relaţiile (2.1) -(2.4) valoarea medie aritmetică $\overline{x}$, abaterea standard experimentală SD şi abatera standard relativă, RSD (sau CV), datele se ataşează în anexele raportului de validare. (În raportare trebuie specificate care din condiţiile de măsurare sunt modificate faţă de testul de repetabiliate). Pentru analizele de rutină se recomandă să se utilizeze datele din baza de date obţinute prin controlul intern de calitate. Valoarea pentru CV (SD) trebuie să fie mai mică sau egală cu cea specificată de producătorul kit-ului de reactivi sau a echipamentului (dacă această informaţie este disponibilă), decât cea specificată de producătorul materialului de referinţă utilizat sau decât valori limitative specificate în literatura de specialitate (vezi obiective analitice, 2.3.4). O diferenţă mică între cele două valori (determinate prin repetabilitate şi prin reproductibilitate internă) ale coeficienţilor de variaţie indică o robusteţe ridicată pentru metodă !

13. Exactitatea/Inexactitatea. Laboratorul trebuie să stabilească inexactitatea (D - deplasarea/bias-ul) prin măsurări pe materiale de referinţă cu valori cunoscute ale concentraţiei analiţilor, la niveluri de decizie medicală, două sau trei niveluri de concentraţie sunt suficiente (**http://www.westgard.com/decision.htm**).
Se măsoară mai multe replici ale materialului de referinţă, în aceleaşi condiţii, cu acelaşi echipament, reactivi, operator, în zile diferite şi se va estima valoarea medie $\overline{x}$, datele se ataşează în anexele raportului de validare. Conform relaţiei (2.9) se calculează deplasarea în valoare absolută sau procentuală

$$D = \overline{x} - a \qquad \text{sau} \qquad D[\%] = \frac{\overline{x} - a}{a} \cdot 100$$

în care a este valoarea ţintă a materialului de referinţă.

În cazul când nu se dispune de materiale de referinţă, pentru determinarea exactităţii în locul acestora, cu precauţie, pot fi utilizate materiale de control special proiectate şi realizate pentru metoda respectivă de analiză de către producătorul echipamentului [22].

De asemenea, pot fi utilizate probe de pacient care se măsoară, la un interval de timp nu mai lung de două ore, atât pe metoda de validat cât şi pe o metodă de comparaţie (de referinţă). Fiecare probă poate fi măsurată de câteva ori atât prin metoda de validat cât şi prin metoda de comparaţie, apoi se face media pentru fiecare [21]. Diferenţa între valorile medii obţinute pentru fiecare probă este valoarea deplasării, la concentraţia corespunzătoare probei respective, considerându-se implicit ca valoare de referinţă cea generată prin metoda de comparaţie. Ca metodă de comparaţie poate fi selectată o metodă de referinţă sau, cel mai frecvent, o metodă de rutină din laborator ale cărui rezultate s-au dovedit a fi corecte în urma unor studii comparative cu o altă metodă dovedită a fi mai exactă şi/sau în urma testării cu materiale standard trasabile.

Valoarea calculată a deplasării trebuie să fie mai mică sau egală cu valoarea permisă specificată de producătorul reactivilor sau analizorului, dacă această infor-

maţie este disponibilă sau mai mică decât valorile limită date în literatură (vezi obiective analitice 2.3.4). Dacă valoarea minimă permisă a deplasării nu este specificată de producător, atunci laboratorul trebuie sa îşi stabilească propriile criterii.

Inexactitatea poate fi estimată şi pe baza rezultatelor obţinute în urma comparării interlaboratoare, când deplasarea se calculează prin diferenţa între valoarea medie a laboratorului şi valoarea medie obţinută de grupul de comparaţie; rezultatul poate fi exprimat şi ca un scor Z, relaţia (2.16). Pentru practica medicală, cea mai recomandată variantă, este obţinerea valorii deplasării în urma unui proces de intercomparări, deoarece obţinerea deplasării numai prin măsurării în cadrul laboaratorului depinde foarte mult de materialul de referinţă utilizat, care, în general, nu certifică valori trasabile la SI.

14. Incertitudinea de măsurare. Se specifică metoda de estimare a incertitudinii de măsurare. Se ataşează bugetul de incertitudine, Tabelul 3.3, vezi Cap 3.

Caracteristicile care trebui verificate pentru validarea unei metode analitice sunt [21]:

- domeniul de măsurare şi includere în acesta a domeniului de referinţă
- precizia
- exactitatea
- incertitudinea de măsurare;

Pentru metodele modificate sau dezvoltate în laborator (în house) se impune verificarea şi pentru:

- limita de detecţie/(de măsurare)
- interferenţe

2.4.3 Structurarea raportului de validare

Raportul de validare ar trebui să cuprindă componente prezentate anterior şi poate fi structurat tabelar ca mai jos (un exemplu detaliat este prezentat în ANEXA 3)

1. Prezentarea condiţiilor în care a fost realizată validarea, punctele 1 - 6 de la secţiunea 2.4.1 (metoda, responsabil, condiţii de mediu, echipamente, reactivi, materiale de referinţă).

2. Prezentarea parametrilor caracteristici ai metodei, punctele 7 - 14 de la secţiunea 2.4.2, pentru demonstrarea adecvării la scop ("fittness for purpose") şi a performanţelor pentru metoda analizată.

Nr. crt.	Denumire (parametru)	Valori determinate corelate, cu valorile limitative (mod de lucru, explicaţii, comentariu)
⋮	⋮	⋮
10	Domeniul de măsurare, D_M şi de referinţă, D_R	- $D_M = 0 - 150$ mmol/L, definit de producătorul echipamentului. S-a verificat prin testare limitele domeniului de măsurare, $L_I = 0$ şi $L_S = 150$ - Din curba de calibrare (Anexa *) rezultă linariate pe domeniul $D_C = 0 - 120$ mmol/L, deci $D_C \subset D_M$. - $D_R = 30 - 70$ mmol/L, (determinat statistic, sau din literatura de specialiate) deci $D_R \subset D_C \subset D_M$. Metoda asigură liniariate în măsurarea probelor pentru populaţia de pacienţi care se adresează laboratorului.
⋮	⋮	⋮
13	Inexactitatea	- $D = 1,2\% < 1,4\%$ (limită specificată de producătorul reactivului sau producătorul analizorului sau calculată din variaţiile biologice vezi obiective analitice 2.3.4) S-au efectuat 20 de măsurări, vezi Anexa *, pe materialul de referinţă ..., cu valoarea ţintă a =..., valoarea medie calculată $\overline{x} = \ldots$ (calculul se realizează cu relaţia 2.9-b). (Se recomandă testarea la încă un nivel critic de decizie medicală). În cazul în care determinarea se bazează pe intercomparări: - $D = \overline{x} - X = \ldots$ (vezi pag. 48). Valorile obţinute în urma testelor în laborator, pentru calculul mărimii $\overline{x}$ sunt date în Anexa *. Se poate calcula scorul Z, relaţia (2.18); dacă, de exemplu, valoarea acestuia rezultă Z=0,25 interpretarea este următoarea: probabilitatea de a produce rezultate exacte este de 90,23%. (Pentru $Z = 0,25 = t$ din Tabelul 1.1 rezultă probabilitatea 9.87% cu care se obţin măsurări cu o deplasare mai mare decât $\overline{x} - X$ în raport cu valoarea adevărată X, deci se obţin măsurări cu o deplasare mai mică decât $\overline{x} - X$ în raport cu valoarea adevărată X, cu o probabilitate de $100\% - 9,87\% = 90,23\%$)

* Anexe care se ataşează raportului de validare.

3. Anexe care să cuprinda documente doveditoare (curba de calibrare, tabele cu datele culese în urma testelor sau alte documente relevante).

4. Concluzii cu privire la satisfacerea cerinţelor, încheiată cu

5. O declaraţie de validitate a metodei.

Un model pentru **Concluzii** ar putea fi:

- Au fost îndeplinite condiţiile de mediu recomandate de producătorul analizorului pentru o bună funcţionare a acestuia (temperatura cuprinsă între 16 - 32°C, umiditate cuprinsă între 45-55%, echipamentul este în bună stare de

funcţionare, fiind etalonat şi calibrat, reactivii şi materialele de referinţă au fost adecvaţi lucrului şi în termen de valabilitate).

- Domeniul de măsurare al aparatului cuprinde domeniul de normalitate pentru pacienţi care se adresează în mod curent laboratorului.
- Metoda îndeplineşte *criteriul de precizie* cerut pentru analizele efectuate (ex. valoarile pentru CV sunt $\leq$ decât cele specificate în literatura de specialitate sau cele specificate ca fiind admise pentru echipament sau pentru serurilor de control utilizate).
- Metoda îndeplineşte *criteriul de exactitate* cerut pentru analizele efectuate (ex. valorile pentru $D\%$ sunt $\leq$ decât cele specificate în literatura de specialitate sau cele specificate ca fiind admise pentru echipament sau pentru serurilor de control utilizate).
- Incertitudinea asociată metodei de măsurare (care exprimă atât repetabilitatea cât şi exactitatea) este în limitele normale pentru acestă metodă.
- În concluzie,
Metoda analizată este adecvată scopului. Acest raport de validare este valabil pentru echipamentele şi reactivii utilizaţi.

Responsabil Analiză, Şef Laborator
Biolog Anca Popescu Dr. Andrei Popescu

2.5 CONTROLUL INTERN AL CALITĂŢII

Obiectivul major al activităţii unui laborator medical este să genereze, pentru probele analizate, rezultate corecte şi de încredere. În obţinerea de rezultate corecte şi de încredere coroborează toate cele trei etape din traseul de efectuare a analizelor: preanalitică, analitică şi postanalitică, iar pentru asigurarea acestor rezultate, în fiecare din aceste etape, trebuie instituit un adecvat control de calitate QC (Quality Control).

În acest subcapitol se va prezenta controlul de calitate intern pentru etapa analitică, control prin care se realizează şi se evaluează nivelul de calitate impus/cerut unei măsurări analitice. Numărul mare de laboratoare, şi mai ales numărul mare de analize efectuate zilnic într-un laborator medical, imprimă domeniului de laboratoare medicale un statut de mediu de producţie similar cu cel al unităţilor de producţie industrială. Această similaritate a determinat ca pentru controlul de calitate analitică din laboratorele medicale să fie adaptate metodele, deja cunoscute, din domeniul industrial. Aceste metode şi procedurile adaptate se datorează în mare parte lui James O. Westgard, iar materialul din acest subcapitol se bazează pe lucrările [21], [22], [24].

Pentru evaluare calităţii analitice dintr-un laborator medical trebuie în primul rând să se stabilească anumite **criterii de calitate** cum ar fi, de exemplu: rezultatul analitic (eroarea analitică totală admisă, TE_a), performanţele analitice (deviaţia standard maximă, deplasarea maximă), specificaţii operaţionale (precizia, exactitatea, regulile de control şi numărul de teste pentru control) şi nu în ultimul rând criteriul semnificaţiei clinice (modificările semnificative în valorile a două teste ale unui pacient care pot conduce la diferite decizii clinice). O procedură QC trebuie să: 1. **detecteze imediat** o eroare de măsurare datorată sistemului, cauzată de schimbările adverse ale condiţiilor de funcţionare sau de modificarea performaţelor operatorului; 2. **monitorizeze în timp** performanţele de precizie şi de exactitate (care pot fi influenţate de schimbările de performanţă ale sistemului testat, de condiţiile de mediu, precum şi de performanţele operatorului).

Efectuarea controlului intern este o cerintă majoră a standardului SR EN ISO 15189:2007. Această cerinţă trebuie să fie reflectată, într-un laborator medical, printr-o activitate de control continuu şi pe termen lung.

2.5.1 Evaluarea calitativă a performanţelor unei metode analitice

- **Evaluarea performanţelor unei metode analitice cantitative.**

Compararea erorii totale obţinute, ϵ, cu valoarea erorii totale admise, TE_a, Anexa 6, [24], este în fond un criteriu de evaluare a calităţii unei metode analitice. Pe baza acestei idei James O. Westgard a conceput şi dezvoltat o metodă grafică - **Diagrama de Decizie** (Decision chart) - pentru evaluarea metodelor analitice

http://www.westgard.com/mvtools.html.

Eroarea totală, Figura 2.4, se obţine prin însumarea componentei sitematice (D, bias/deplasare) cu componenta aleatorie (SD sau multiplu de deviaţie standard), iar conform relaţiei (2.21) această sumă trebuie să fie mai mică decât eroarea totală admisă, TE_a. Mai mult, chiar dacă în procesul de măsurare apare o creştere a erorii este normal ca eroarea totală obţinută să fie mai mică decât eroarea totală admisă. Aceasta impune ca metoda să permită pentru eroarea sa o rezervă /toleranţă de eroare până să atingă valoarea impusă TE_a, Figura 2.10.

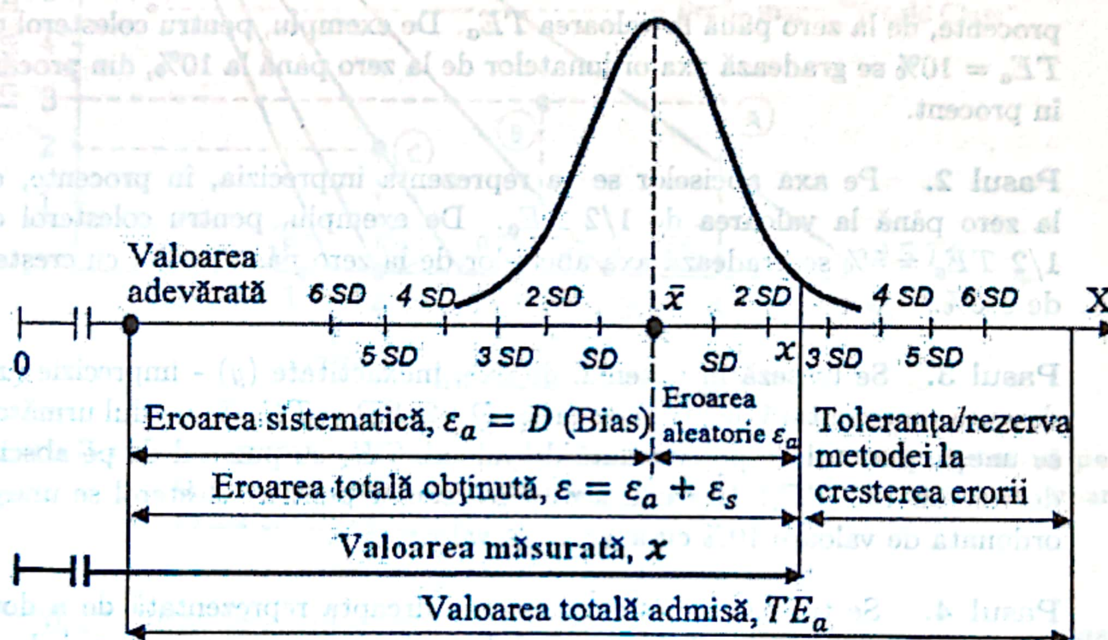


Figura 2.10 **Corelarea între eroarea totală obţinută ϵ şi eroarea totală admisă TE_a. Se observă rezerva de ceştere a erorii până la atingerea valorii erorii totale admise, TE_a**

Limitele de performanţă, pentru eroarea totală obţinută pentru metoda de măsurare în funcţie de valoarea erorii totale admise, TE_a, se pot impune prin următoarele relaţii de inegalitate:

$$\begin{array}{ll} 1. & D+2\cdot SD \leq TE_a \\ 2. & D+3\cdot SD \leq TE_a \\ 3. & D+4\cdot SD \leq TE_a \\ 4. & D+5\cdot SD \leq TE_a \\ 5. & D+6\cdot SD \leq TE_a \end{array} \qquad (2.22)$$

care, în fond, fixează criterii/limite pentru eroarea totală obţinută (suma dintre eroarea sistematică şi multipli de deviaţie standard SD (eroarea aleatorie) să fie mai mică sau egală decât eroarea totală admisă, TE_a). Deci calitatea pentru o metodă analitică se poate exprima prin rezerva de eroare (măsurată în multipli de SD) până la atingerea valorii erorii totale admise, TE_a.

Diagrama de decizie se va trasa pe baza inecuaţiilor (2.22), particularizând pentru colesterol total a cărui valoarea admisă pentru eroarea totală este $TE_a = 10\%$, Anexa 6. La analiţii la care eroarea totală admisă nu este exprimată în procente ci în unităţi de concentraţie, pentru a se exprima în procente, se divide valoarea dată în unităţi de concentraţie la valoarea nivelului concentraţiei de decizie medicală respectiv şi se înmulţeşte cu 100. Pentru trasarea diagramei de decizie, Figura 2.11, se parcurg următorii paşi:

Pasul 1. Pe axa ordonatelor se va reprezenta inexactitatea (D, biasul), în procente, de la zero până la valoarea TE_a. De exemplu, pentru colesterol cu $TE_a = 10\%$ se gradează axa ordonatelor de la zero până la 10%, din procent în procent.

Pasul 2. Pe axa abciselor se va reprezenta imprecizia, în procente, de la zero până la valoarea de $1/2\ TE_a$. De exemplu, pentru colesterol cu $1/2\ TE_a = 5\%$ se gradează axa abciselor de la zero până la 5%, cu creşteri de $0,5\%$.

Pasul 3. Se trasează în sistemul de axe, inexactitate (y) - imprecizie (x), dreapta reprezentată de prima ecuaţie, $D + 2 \cdot SD = TE_a$, în modul următor: se uneşte punctul de pe ordonată de valoare TE_a cu punctul de pe abscisă de valoare $1/2\ TE_a$. În cazul acesta particular pentru colesterol se uneşte ordonata de valoare 10% cu abscisa de valoare 5%.

Pasul 4. Se trasează în sistemul de axe dreapta reprezentată de a doua ecuaţie, $D + 3 \cdot SD = TE_a$, în modul următor: se uneşte punctul de pe ordonată de valoare TE_a cu punctul de pe abscisă de valoare $1/3\ TE_a = 0,33\ TE_a$. În cazul acesta particular pentru colesterol se uneşte ordonata de valoare 10% cu abscisa de valoare $3,33\%$.

Pasul 5. Se trasează în sistemul de axe dreapta reprezentată de a treia ecuaţie, $D + 4 \cdot SD = TE_a$, în modul următor: se uneşte punctul de pe ordonată de valoare TE_a cu punctul de pe abscisă de valoare $1/4\ TE_a = 0,25\ TE_a$. În cazul acesta particular pentru colesterol se uneşte ordonata de valoare 10% cu abscisa de valoare $2,5\%$.

Pasul 6. Se trasează în sistemul de axe dreapta reprezentată de a patra ecuaţie, $D + 5 \cdot SD = TE_a$, în modul următor: se uneşte punctul de pe ordonată de valoare TE_a cu punctul de pe abscisă de valoare $1/5 TE_a = 0,2 TE_a$. În cazul acesta particular pentru colesterol se uneşte ordonata de valoare 10% cu abscisa de valoare 2%.

Pasul 7. Se trasează în sistemul de axe dreapta reprezentată de a cincea ecuaţie, $D + 6 \cdot SD = TE_a$, în modul următor: se uneşte punctul de pe ordonată de valoare TE_a cu punctul de pe abscisă de valoare $1/6\ TE_a =$

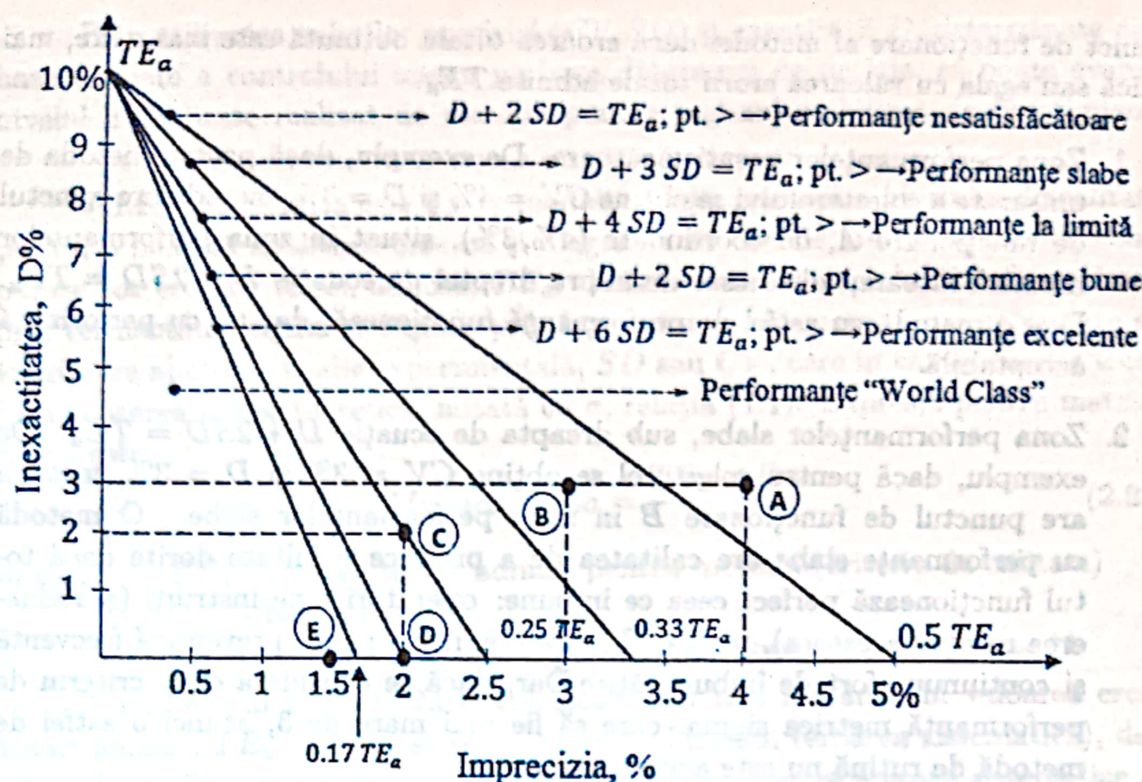


Figura 2.11 Diagrama de decizie indicând zonele de încadrare calitativă pentru o metodă analitică (particularizată pentru colesterol cu eroarea totală admisă $TE_a = 10\%$).

$0,17\ TE_a$. În cazul acesta particular pentru colesterol se uneşte ordonata de valoare 10% cu abscisa de valoare 1,7%.

Pasul 8. Se înscrie/etichetează fiecare din cele 6 zone, prin împărţirea planului de cele cinci drepte, cu următoarele calificative: Performanţe nesatisfăcătoare, slabe, la limită, bune, excelente şi clasă internaţională.

Pe diagrama de decizie obţinută se figurează "punctul de funcţionare" al metodei, care este determinat prin cele două coordonate: valoarea obţinută pentru imprecizia metodei verificate (ca abscisă) şi valoarea obţinută pentru inexactitatea metodei verificate (ca ordonată). Cele patru drepte, corespunzătoare celor patru limite de performanţe impuse prin relaţiile (2.22) împart planul inexactitate-imprecizie al diagramei de decizie în cinci zone de performanţă.

O dreaptă de ecuaţie $D + k \cdot SD = TE_a$ ($k = 2, 3, 4, 6$) împarte planul inexactitate-precizie în două regiuni. Pentru un punct de coordonate (D_i, SD_i) situat deasupra dreptei, dacă valorile acestor coordonate se introduc în ecuaţia dreptei rezultă $D_i + k \cdot SD_i > TE_a$, iar dacă se introduc în ecuaţia dreptei valorile coordonatelor unui punct situat sub dreapta rezultă ingalitatea $D_i + k \cdot SD < TE_a$; evident coordonatele unui punct situat pe dreaptă vor produce egalitatea $D_i + k \cdot SD_i = TE_a$. Analizând în această nuanţă se poate vizualiza pentru fiecare

punct de funcţionare al metodei dacă eroarea totală obţinută este mai mare, mai mică sau egală cu valoarea erorii totale admise TE_a.

1. Zona performanţelor nesatisfăcătoare. De exemplu, dacă pentru metoda de măsurare a colesterolului se obţine $CV = 4\%$ şi $D = 3\%$, metoda are punctul de funcţionare A, de coordonate $(4\%, 3\%)$, situat în zona performanţelor nesatisfăcătoare, adică este deasupra dreptei de ecuaţie $D + 2SD = TE_a$. Deşi o metodă cu astfel de performanţă funcţioneză, dar nu cu performaţă acceptabilă.

2. Zona performanţelor slabe, sub dreapta de ecuaţie $D + 2SD = TE_a$. De exemplu, dacă pentru colesterol se obţine $CV = 3\%$ şi $D = 3\%$, metoda are punctul de funcţionare B în zona performanţelor slabe. O metodă cu performanţe slabe are calitatea de a produce rezultate dorite dacă totul funcţionează perfect ceea ce impune: operatori bine instruiţi (şi reducerea rotaţiei acestora), teste QC frecvente, mentenanţă preventivă frecventă şi contiunuu efort de îmbunătăţire.Dar, dacă se consideră ca şi criteriu de performanţă metrica sigma, care să fie mai mare de 3, atunci o astfel de metodă de rutină nu este acceptată.

3. Zona performanţelor la limită, sub dreapta de ecuaţie $D + 3SD = TE_a$. Punctul de funcţionare C pentru colesterol, de coordonate $CV = 2\%$ şi $D = 2\%$, este chiar la joncţiunea între zona de performanţe la limită cu zona de performanţe bune. O metodă cu performanţe la limită necesită un control de calitate cu proceduri de control de tip reguli multiple şi cu un număr de minim patru teste de control (N=4) pe o serie de măsurări.

4. Zona performanţelor bune, sub dreapta de ecuaţie $D+4SD = TE_a$. O astfel de metodă cu performanţe bune este uşor controlabilă, pentru colesterol un punct în acestă zonă este punctul D de coordonate $CV = 2\%$ şi $D = 0,0\%$. Pentru controlul de calitate necesită 2-4 teste de control pe seria de măsurări, o singură regulă de control cu limitele de control fixate la $\pm 2.5SD$.

5. Zona performanţelor excelente, sub dreapta $D + 5SD = TE_a$. O astfel de metodă în exploatarea de rutină necesită doar două teste de control ($N = 2$) pe seria de măsurări şi o singură regulă de control cu limitele fixate la $\pm 2,5SD$ sau $3SD$.

6. Zona performanţelor de nivel internaţional ("world class" performance), Six-sigma, sub dreapta de ecuaţie $D + 6SD = TE_a$. Punctul de funcţionare E, pentru colesterol de coordonate $CV = 1,5\%$ şi $D = 0,0\%$, se situează în această zonă. O astfel de metodă necesită unul sau două teste de control pe seria de măsurări, o singură regulă de control cu limitele de control fixate la $3,5SD$ sau $\pm 3SD$.

Prin utilizarea valorilor preciziei (CV, SD) şi exactităţii D, determinate din baza de date a controlului intern pe baza diagramei de decizie, se poate evalua nivelul de calitate realizat de metodă pentru regimul stabilizat de funcţionare.

• **Metrica sigma** este o altă modalitate de evaluare a nivelului de calitate pentru o metodă analitică, care ca şi diagrama de decizie are ca valoare de comparare tot eroarea totală admisă, TE_a. Referirea acestei modalităţi de evaluare prin termenul de sigma se explică prin fapul că această metrică are ca unitate de exprimare abaterea medie experimentală, SD sau CV, care în cazul teoretic tinde spre abaterea medie teoretică, notată cu σ, relaţia (1.1). Expresia pentru metrica sigma este

$$Metrica\,sigma = \frac{TE_a - D}{SD} \quad (2.23)$$

în care: TE_a - eroarea totală admisă pentru metodă (criteriu de calitate)
D - biasul metodei
SD - abaterea standard experimentală obţinută pentru metodă

Numărătorul relaţiei (2.23) calculează cât mai rămâne din valoarea erorii totale admise, TE_a după ce se scade valoarea biasului (eroarea sistematică), deci cât mai este "rezervă/toleranţă" pentru eventuală creştere a erorii sistematice de exemplu datorită unei decalibrări, Figura 2.11, iar această rezervă se exprimă prin numărul de abateri standard dacă se împarte la SD.

Când eroarea totală admisă este $TE_a = D+3SD$, iar eroarea totală obţinută este $\epsilon = D + 3SD$ (ceea ce înseamnă că pentru eroarea aleatorie se consideră un nivel de încredere de 99,7%) rezultă, conform reprezentării din Figura 2.10, că mai rămâne ca rezervă pentru o eroare tolerată de metodă o valoare egală cu zero, $(D + 3SD) - (D + 3SD) = 0$. Pentru această valoare a erorii totale admise de $TE_a = (D + 3SD)$ calculând metrica sigma, cu relaţia 2.23, rezultă o valoare $sigma = 3$, $(D + 3SD - D)/SD = 3$, ceea ce corespunde în diagrama de decizie, Figura 2.11, pentru o metodă analitică cu performanţe la limită. La o metodă cu metrica sigma egală cu trei, orice eventuală creştere (decalibrare), în timpul funcţionării, a componentei de eroare sistematică, $\Delta\epsilon_s$, va face ca eroarea totală obţinută a metodei să fie mai mare decât eroarea totală admisă, $D+3SD+\Delta\epsilon_s > D+3SD$, (deasupra dreptei de ecuaţie $D + 3SD = TE_a$ din diagrama de decizie, Figura 2-11) pentru că metoda nu mai are o toleranţă/rezervă la eroare. Rezultă că o metrică sigma egală cu trei caracterizează calitativ o metodă analitică cu performanţe la limită.

Performanţe de nivel world class rezultă când *metrica sigma* = 6, ceea ce înseamnă că pe lângă o valoare a erorii totale obţinute $\epsilon = D + 3SD$ metoda mai permite o creştere pentru componenta sistemtică a erorii (decalibrare) cu până la $3SD$ până când să ajungă să depăşească valoarea, $(D + 3SD + 3D)$, a erorii totale admise, rezultă *metrica sigma* $[(D + 3SD + 3D) - D]/SD = 6$ (corespunde unui punct de funcţionare sub sau pe dreapta de ecuaţie $D+6SD = TE_a$ din diagrama de decizie).

Evident, pentru multianalizoarele moderne pe care se realizează o curbă de distribuţie normală foarte "ascuţită" adică dispersia de măsurare, SD, este foarte mică, chiar cu fixarea criteriului de calitate foarte strâns, TE_a de valoare mică, procesul de măsurare va fi caracterizat printr-o valoare ridicată pentru metrica sigma, relaţia 2.23, iar clasa metodei va fi excelentă sau "world class".

Exemplul 2.6 Pentru o metodă de determinare a colesterolului, cu valorile: imprecizia $CV = 3\%$ şi inexactitatea $D = 3\%$ să se calaculeze metrica sigma.

Soluţie: Din Anexa 6 rezultă eroarea totală admisă pentru colesterol $TE_a = \pm 10\%$. Aplicând relaţia (2.23) rezultă

$$Metrica\, sigma = \frac{TE_a - D}{SD} = \frac{10\% - 3\%}{3\%} = 2,33$$

Valoarea metricii sigma de 2,33 clasifică această metoda de măsurare cu performanţe la limită, punctul B din Figura 2.11 (deasupra dreptei de ecuaţie $D + 3SD = TE_a$).

Problema care se pune pentru o metodă analitică la care s-a stabilit, din baza de date de control intern, imprecizia (SD, CV), inexactitatea (D) şi pentru care s-a impus (Anexa 6) eroarea totală admisă TE_a (criteriul de calitate) să se determine valoarea erorii sistematice maxime, D_{max}, pe care o poate suporta/tolera metoda fără să iasă din criteriul de calitatea impus. Acest raţionament se poate realiza pe baza desenelor din Figura 2.12. În Figura 2.12-a sunt reprezentate distribuţia de frecvenţă a procesului cu limitele de control fixate la $\overline{x} \pm 3SD$ (verticalele trasate cu linie întreruptă) şi valoarea pentru eroarea totală admisă, TE_a (verticalele trasate cu linie groasă continuă), pentru un proces (stabilizat) la care componenta de eroare sistematică este nulă.

Desenul din Figura 2.12-b răspunde la întrebarea anterioară, cât de mare poate fi deplasarea suferită de proces, în timpul funcţionării, încât doar 5% din numărul total de analize (una din 20, vezi Figura 2.2) să aibă eroarea totală obţinută $> TE_a$. Curba de distribuţie normală este translatată, spre dreapta verticală care fixează pe TE_a, până când suprafaţa (haşurată) din "coada" curbei, care depăşeşte această dreaptă verticală este egală cu 5%. Din Tabelul 1.2 se citeşte că în cozile curbei lui Gauss sunt cuprinse suprafeţe proporţionale cu $9,9\%/2 \approx 5\%$ când acestea sunt în afara intervalului centrat de $(\overline{x} - 1,65\sigma, \overline{x} + 1,65\sigma)$. Rezultă că translatarea curbei distribuţie normală se poate face până centrul acesteia este la o distanţă de $1,65\sigma$ faţă de dreapta verticală TE_a, deci deci deplasarea (eroarea sistematică) maximă este $D_{max} = TE_a - 1,65\sigma$.

În Figura 2.12-c este reprezentat un caz intermediar, între cele din figura a şi b, când curba de distribuţie normală este afectată de o deplasare $D < D_{max}$. Pentru acest caz creşterea în continuare a erorii sistematice, $\Delta\epsilon$, până la valoarea D_{max} se poate calcula cu următoarea relaţie (exprimată în unităţi de SD):

$$\Delta\epsilon = [(TE_a - D)/SD] - 1,65 \qquad (2.24\text{-a})$$

Deorece expresia în paranteze pătrate este expresia pentru sigma-metric, relaţia 2.23, din prezenta relaţie se pot deduce şi următoarele două relaţii echivalente

$$\Delta\epsilon = \text{Sigma-metric} - 1,65 \qquad (2.24\text{-b})$$

sau

$$\text{Sigma-metric} = \Delta\epsilon + 1,65 \qquad (2.24\text{-c})$$

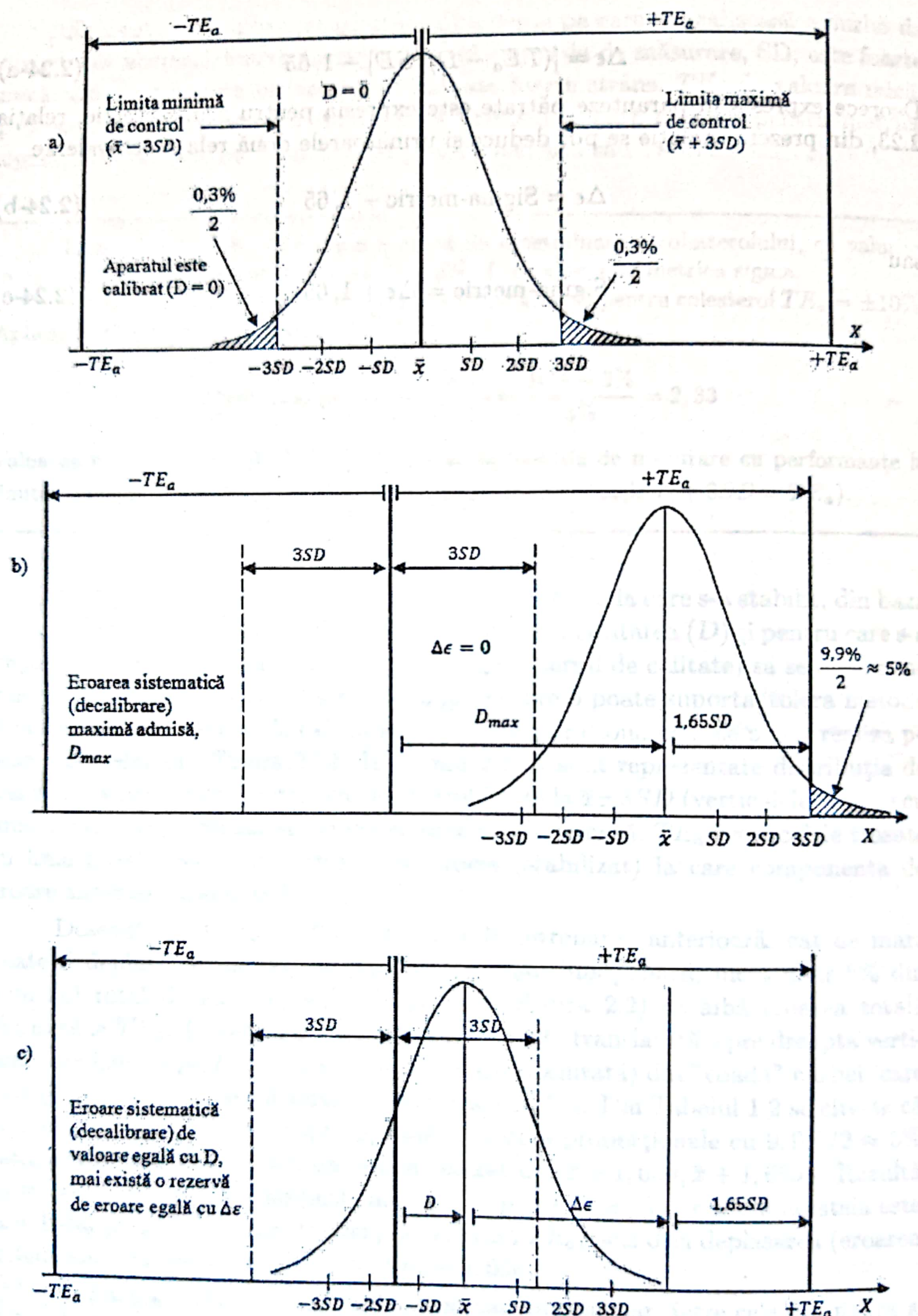


Figura 2.12 Determinarea valorii erorii sistematice critice, $\Delta\epsilon$ pentru o metodă cu eroarea totală admisă TE_a

2.5.2 Reguli de control

Prin reguli de control se înţelege alegerea şi implementarea testelor pentru determinarea stării de funcţionare ("sănătate") a metodei analitice. Astfel de reguli de control, pentru testarea producţiei de componente electrice, au fost concepute prima dată, în 1925, de către Walter A. Shewhart. Prin anii ′50 aceste reguli au fost adaptate de către Levey şi Jennings pentru laboratorele medicale, care s-au materializat sub forma binecunoscutei diagrame Levey-Jennings (diagrama de control).

• **Diagrama de control**, desenată în partea dreaptă din Figura 2.13 este o reprezentare în funcţie de timp a valorilor testelor efectuate şi în care s-au fixat limitele de control superioare L_s (de exemplu, $\overline{x}+1SD$, $\overline{x}+2SD$), $\overline{x}+3SD$) şi limitele de control inferioare L_i (de exemplu, $\overline{x}-1SD$, $\overline{x}-2SD$, $\overline{x}-3SD$). Procesul de măsurare este în afara controlului când valoarea obţinută prin măsurarea de test, efectuată cu un ser de control, este în afara unei limite de control superioară sau inferioară şi este sub control când valoarea obţinută se situează în interiorul intervalului (L_i, L_s). Situarea valorilor testelor în interiorul intervalului determinat de L_i, L_s reflectă **o variabilitate normală, o funcţionare stabilă** pentru un procesul de măsurare.
O valoare de test în afara limitelor de control poate fi generată de o serie de factori: variaţie în valoarea serului de control, instabilitatea reactivului, variaţia sensibiltăţii aparatului ("drift"), anomalii în funcţionarea aparatului, modificarea condiţiilor de mediu, defecte de operator etc. O astfel de valoare în afara limitei de control impune oprirea aparatului, detectarea cauzei şi readucerea procesului de măsurare în limitele normale de funcţionare, reevaluarea sau eliminarea/rejectarea probelor, tot acest proces este consumator de timp, efort şi resurse.

Obţinerea valorilor punctelor înscrise în diagrama de control se realizează prin testarea metodei pe o anumită durată de funcţionare. Această durată de funcţionare este referită în mod generic prin termenul **serie de măsurări** (run). Nu se specifică niciunde exact cât trebuie să fie, ca durată în timp, o serie de măsurări ci doar [22] "O serie de măsurări este un interval în care precizia şi exactitatea sistemului testat se presupun că sunt **stabile**, dar nu mai lung de 24 de ore ...".

Într-o serie de măsurări numărul de testări efectuate, N, poate avea valori 1, 2, 3, ... chiar până la 10. Pentru $N = 2$ se testează fie un singur nivel de ser de control de două ori, fie se testează două niveluri de seruri de control (pentru două niveluri de decizie clinică, în general, un ser cu concentraţia situată în domeniul de referinţă iar celălalt în domeniul concentraţiilor ridicate) fiecare o singură dată. Pentru $N = 3$ se testează un ser de control de trei ori sau, mai indicat, se testează trei niveluri de seruri (pentru nivelurile jos, mediu şi ridicat) fiecare o singură dată. Patru teste, $N = 4$, se pot obţine prin testarea a două niveluri de seruri, fiecare de două ori, prin testarea unui singur nivel de ser de patru ori, sau prin testarea a patru seruri de control, fiecare o singură dată.

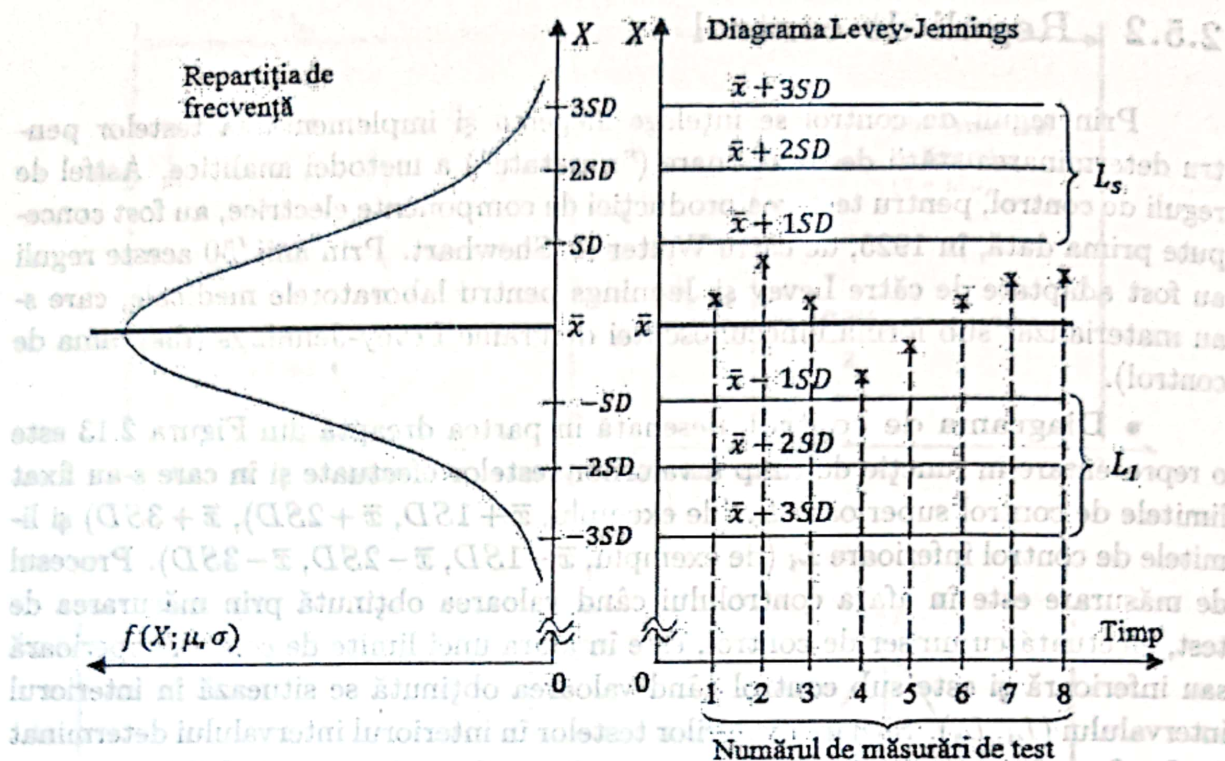


Figura 2.13 **Diagrama de control/Levey Jenning (partea dreaptă) şi reprezentarea repartiţiei de frecvenţă (partea stângă pentru un proces de măurare)**

Alăturat diagramei de control din Figura 2.13, în partea stângă, pentru o mai bună înţelegere a variabilităţii procesului de măsurare, este reprezentată distribuţia de frecvenţă a procesului de măsurare. Prin această alăturare se sugerează modul de fixare a limitelor de control, care, în general, sunt multiplii de deviaţie standard $\pm 2SD$, $\pm 2,5SD$, $\pm 3SD$, $\pm 3,5SD$, ... Regula de control, de exemplu cu limitele fixate la $\pm 3SD$, care la o testare indică faptul că procesul a depăşit una din limite, se simbolizează prin notaţia 1_{3s}, alte notaţii în acest sens pot fi: $1_{2,5s}$; $1_{3,5s}$ (care corespund pentru fixarea limitelor de control la $\pm 2,5SD, \pm 3,5SD$). Alegerea limitelor de control este o decizie de cea mai mare importanţă pentru QC. Prin această alegere sunt puternic influenţaţi doi parametrii care reflectă calitatea controlului: probabilitatea de rejectare falsă şi probabilitatea de detectare a erorilor.

• **Probabilitatea de rejectare falsă,** P_{fr}, se defineşte ca fiind probabilitatea ca o serie de măsurări să fie rejectată când nu există nici o eroare, în afară de imprecizia inerentă metodei de măsurare testată, ideal $P_{fr} = 0,00$. Imprecizia inerentă se referă la imprecizia sau eroarea aleatorie a procesului de măsurare în funcţionare stabilă, adică imprecizia când metoda funcţionează corect. În funcţionarea stabilă nu există eroare sistematică ci doar eroare aleatorie inerentă. Valoarea pentru probabilitatea de rejecţie falsă (alarmă falsă, fals pozitiv) este egală cu suprafaţa cozilor curbei de distribuţie normală situate în exteriorul

valorilor limitelor de control. Pentru limite de control $\pm 3SD$, în Figura 2.12-a corespund suprafeţele haşurate, pentru care din Tabelul 1.2 rezultă $P_{fr} = 0,3\%$, adică o rejectare falsă dintr-un număr de 333 teste, vezi Figura 2.2 (ceea ce, pentru un test pe zi pe seria de măsurări, ar reveni la o dată pe an). Chiar cu creşterea numărului de teste efectuate pe seria de măsurări până la $N = 4$ valoarea pentru P_{fr} se menţine sub 1%.

Pentru limite de control fixate la $\pm 2SD$, cu $N = 1$, valoarea probabilităţii de rejectare falsă este de 5%, corespunde suprafeţelor din cozile curbei de distribuţie normală situate în afara acestor limite de control (adică o rejectare falsă, 1_{2s}, dintr-un număr de 20 teste). Mărind numărul de teste efectuate pe seria de măsurări rezultă o creştere a probabilităţii de rejectare falsă în felul următor: pentru $N = 2 \rightarrow P_{fr} = 9\%$, pentru $N = 3 \rightarrow P_{fr} = 14\%$, pentru $N = 4 \rightarrow P_{fr} = 18\%$. Această creştere a probabilităţii de rejectare falsă este un argument pentru evitarea fixării limitelor de control la $\pm 2SD$, în consecinţă pentru limite de control se recomadă valori mai mari, de exemplu: $\pm 2,5SD$, $\pm 3SD$, $\pm 3,5SD$. Când se realizează o depăşire/încălcare a regulei 1_{3s}, pentru care probabiliatea de rejectare falsă este sub 1%, deci se efectuează rejectarea seriei de măsurări, nu în acelaşi mod se procedează când se testează 1_{2s}, în acest caz, raţional, trebuie să se repete testul de control deoarece s-ar putea să fi fost o alarmă falsă.

• **Probabilitatea de detectare a erorilor,** P_{ed}, se defineşte ca fiind probabilitatea ca o serie de măsurări să fie rejectată atunci când există o eroare sistematică în afară de imprecizia inerentă (variabilitatea) a metodei de măsurare testate, ideal $P_{ed} = 1,00$ (alarmă pozitivă).

Se va exemplifica determinarea probabilităţii de detectare a erorilor, P_{ed}, pentru o metodă analitică cu metrica sigma = 6 (admite o rezervă de eroare de $3SD$ până să depăşească eroarea totală admisă TE_a, ceea ce este echivalent cu o eroare totală $TE_a = \pm 6SD$), calculul este similar şi pentru o metodă cu sigma metric diferită de şase. În Figura 2.14 distribuţia normală pentru această metodă este reprezentată prin linie întreruptă, limitele de control sunt fixate la $\pm 3SD$ (verticalele cu linie întreruptă), iar criteriul de performanţă, $TE_a = \pm 6SD$, este reprezentat prin verticalele cu linie continuă îngroşată la distanţe $\pm 6SD$ faţă de valoarea medie $\overline{x}$. Când metoda este afectată de o eroare sistematică apărută în timpul funcţionării, egală cu $D_{max} = 4,35SD$, caracteristica de distribuţie normală, reprezentată cu linie continuă, este translatată spre dreapta (această poziţionare este similară ca în Figura 2.12-b, unde s-a arătat că din numărul total al măsurărilor sunt afectate de o eroare $\geq TE_a = \pm 6SD$ doar 5%). Probabilitatea de detectare a erorii sistematice de valoare $4,35SD$ este egală cu suprafaţa (haşurată) de sub curba deplasată a distribuţiei normale, situată în dreapta limitei de control $+3SD$. Coada curbei de distribuţie, rămasă în stânga suprafeţei haşurate, este la distanţa de $1,35SD$ faţă de centru, deci corespunde unei probabilităţi egale cu 0,1717 : 2 = 0,0858 (vezi Tabelul 1.2), în consecinţă probabilitatea de detectare a erorii sistematice, $D_{max} = 4,35SD$, este egală cu suprafaţa haşurată, adică $1 - 0,0858 = 0,9142$, rezultă $P_{ed} \approx 91\%$.

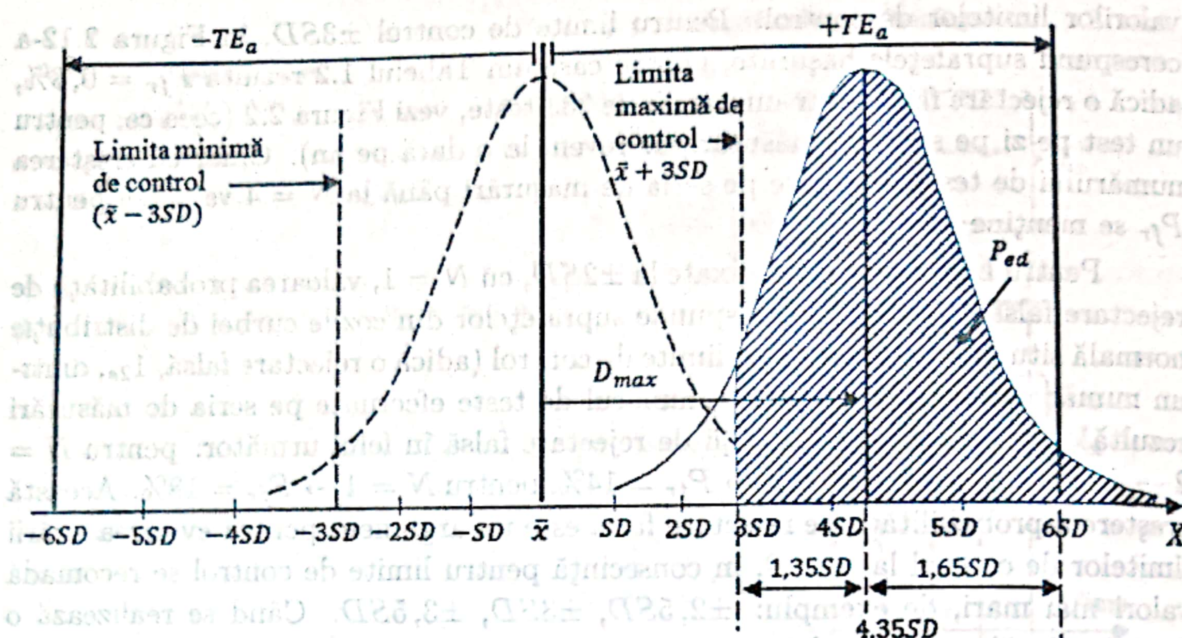


Figura 2.14 Determinarea probabilităţii de detectare, P_{ed}, pentru o metodă cu metrica sigma = 6 si limitele de control $\pm 3SD$

Grafic, se poate evidenţia, dacă limita de control, în acest caz egală cu $+3SD$, se măreşte (deplasare spre dreapta) suprafaţa haşurată de sub curba de distribuţie se micşorează deci P_{ed} scade, iar dacă limita de control se micşorează (deplasare spre stânga) suprafaţa haşurată de sub curba de distrbuţie se măreşte deci P_{ed} creşte. Se poate concluziona că mărirea limitelor de control reduce probabilitatea de detectare a unei erori sistematice pe când micşorarea limitelor de control măreşte probabilitatea de detectare a erorii sistematice.

De asemenea se poate analiza variaţia probabilităţii de detectare a erorii, P_{ed}, când limitele de control rămân fixe (în acest caz la $\pm 3SD$), la modificarea erorii sistematice. La micşorarea erorii sistematice, deplasarea spre stânga a curbei de repartiţie normală reprezentată cu linie continuă, face ca suprafaţa haşurată să se micşoreze, deci probabilitatea de detectare a erorilor scade pe măsură ce erorile sistematice devin mai mici. Invers, dacă erorile sistematice devin mai mari, curba distribuţiei normale se deplasează spre dreapta, suprafaţa haşurată devine mai mare, deci P_{ed} creşte.

Dependenţa, analizată până acum, între valoarea probabilităţii de detectarea a erorilor, P_{ed}, şi modificarea erorii sistematice este exprimată şi în graficul funcţiei putere reprezentat în Figura 2.15 (pentru N=2 şi diferite limite de control). În acest grafic, pe axa ordonatelor este reprezentată probabilitatea de rejectare P (atât pentru rejectările adevărate, P_{ed}, cât şi pentru cele false, P_{fr}), iar pe axa absciselor este reprezentată eroarea sistematică, ES (exprimată în unităţi de SD). În partea superioară a graficului, în sensul axei absciselor este reprezentată de asemenea şi o altă scară, scara sigma. Valorile reprezentate pentru sigma metric,

pe scara sigma, se obţin din valorile erorii sistematice la care se adună 1,65, după cum rezultă din relaţia (2.24-c), deci zero de pe abscisa corespunzătoare erorii sistematice devine 1,65 pe abscisa scării sigma. În partea dreaptă a graficului, în tabel, pentru fiecare din curbele de funcţii putere, a, b, c, d, e şi f sunt specificate: regula de control, P_{fr}, P_{ed}, N şi R (numărul de serii de măsurări din care se culeg cele N date de test pentru analiză).

Din graficul funcţiilor putere, valoarea ordonatei punctului de intersecţie dintre axa ordonatelor (intercept) şi o curbă de putere este egală cu probabilitatea de rejectare falsă, P_{fr}, corespunzătoare acelei curbe (eroarea sistematică este egală cu zero, corespunde valorii 0 pe axa absciselor). Se observă că pentru: $1_{2s} \rightarrow P_{fr} =$ 9%; $1_{2,5s} \rightarrow P_{fr} = 3\%$; $1_{3s}, 1_{3,5s}, 1_{4s}, 1_{5s}, \rightarrow P_{fr} = 0\%$. O eroare sistematică, de

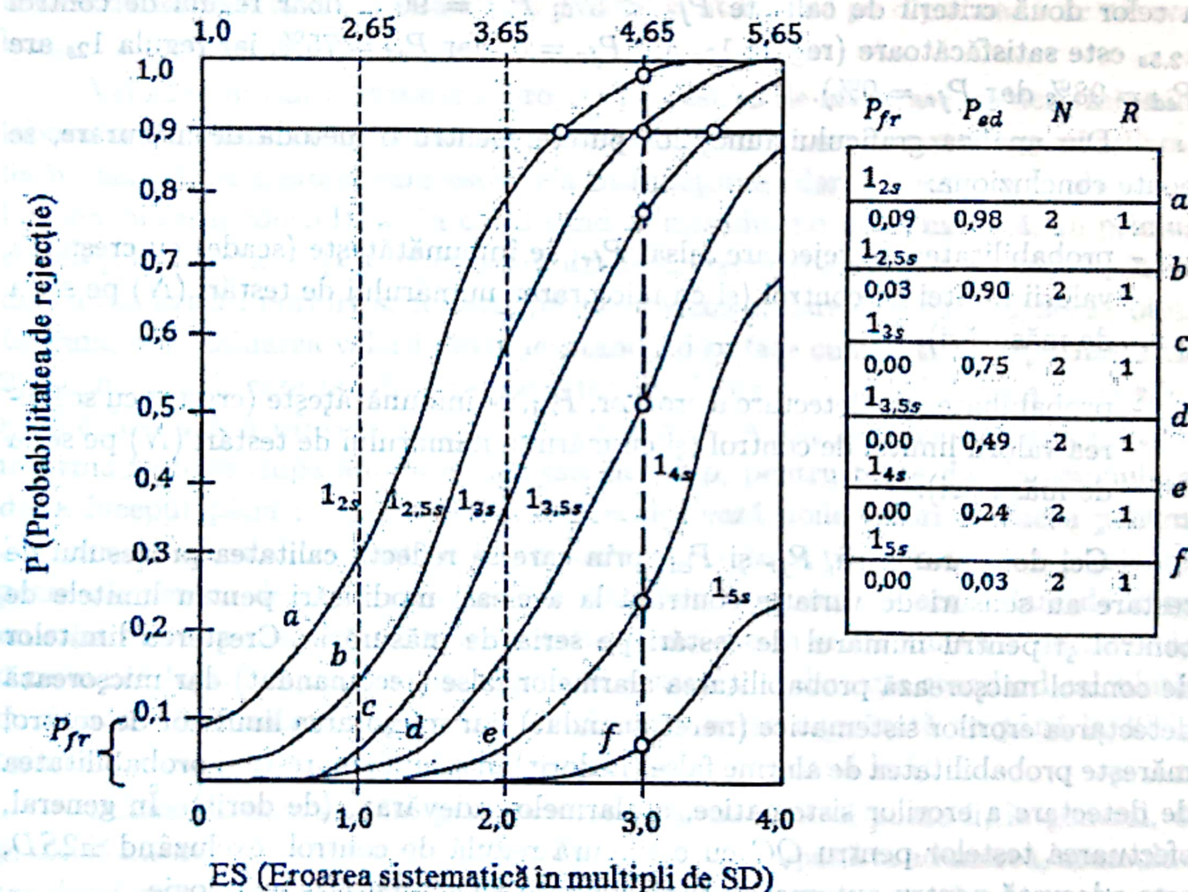


Figura 2.15 **Graficul funcţiilor putere pentru regulile de control specificate în tabelul alăturat**

valoare egală cu $3SD$, care afectează funcţionarea procesului de măsurare este detectată (ordonatele punctelor de intersecţie dintre curbele funcţiilor putere şi verticală cu linie întreruptă îngroşată figurată la abscisa egală cu 3) cu următoarele valori de probabilitate: $1_{2s} \rightarrow P_{ed} = 98\%$; $1_{2,5s} \rightarrow P_{ed} = 90\%$; $1_{3s} \rightarrow P_{ed} = 75\%$; $1_{3,5s} \rightarrow P_{ed} = 49\%$; $1_{4s} \rightarrow P_{ed} = 24\%$; $1_{5s} \rightarrow P_{ed} = 3\%$. Erorile sistematice, ES,

dacă sunt importante din punct de vedere medical, pentru a fi detectabile cu o probabilitate de 90% (abscisele punctelor de intersecţie dintre funcţiile putere cu dreapta orizontală dusă la valoarea de probabilitate de 90%) trebuie să fie cel puţin egale cu (sau mai mari): $2,5SD$ pentru 1_{2s}; $3SD$ pentru $1_{2,5s}$; $3,5SD$ pentru 1_{3s}.

Un criteriu practic, pentru calitatea procesului de măsurare, se poate stabili prin detectarea cu o probabilitate de 90% a unei erori sistematice importante din punct de vedere medical. De exemplu, dacă se impune ca o eroarea medicală egală cu de trei ori deviaţia standard $3SD$ să fie detectabilă, atunci din analiza anterioară rezultă că numai regulile de control 1_{2s} şi $1_{2,5s}$ (cu $N = 2$) pot îndeplini acest criteriu. De asemenea, dacă pe lângă detectarea cu o probabilitate de 90%, se impune criteriu ca probabilitatea de rejectare falsă să fie sub 5%, de dorit sub 1%, atunci se constată că acesta este realizat numai de regulile de control cu limitele de control $\geq 2,5SD$, şi $N = 2$. În final, rezultă că pentru îndeplinirea simultană a celor două criterii de calitate $P_{fr} < 5\%$, $P_{ed} = 90\%$, doar regula de control $1_{2,5s}$ este satisfăcătoare (regula 1_{3s} are $P_{fr} = 0$, dar $P_{ed} = 75\%$, iar regula 1_{2s} are $P_{ed} = 98\%$ dar $P_{fr} = 9\%$).

Din analiza graficului funcţiilor putere, pentru o metodă de măsurare, se poate concluziona:

- probabilitatea de rejectare falsă, P_{fr}, se îmbunătăţeşte (scade) cu creşterea valorii limitei de control (şi cu micşorarea numărului de testări (N) pe seria de măsurări).

- probabiliatea de detectare a erorilor, P_{ed}, se îmbunătăţeşte (creşte) cu scăderea valorii limitei de control (şi cu mărirea numărului de testări (N) pe seria de măsurări).

Cei doi parametrii, P_{fr} şi P_{ed}, prin care se reflectă calitatea procesului de testare au sensuri de variaţie contrară la aceleaşi modificări pentru limitele de control şi pentru numărul de testări pe seria de măsurări. Creşterea limitelor de control micşorează probabilitatea alarmelor false (recomandat) dar micşorează detectarea erorilor sistematice (nerecomandat), iar micşorarea limitelor de control măreşte probabilitatea de alarme false (nedorit) în schimb măreşte şi probabilitatea de detectare a erorilor sistematice, a alarmelor adevărate (de dorit). În general, efectuarea testelor pentru QC cu o singură regulă de control, excluzând $\pm 2SD$, este adecvată pentru automatele perfecţionate de chimie şi hematologie.

• **Stabilirea limitelor de control** Limitele de control trebuie să caracterizeze corect variabiliatea procesului de măsurare testat, ceea ce impune ca valoarea medie, $\overline{x}$, şi deviaţia standard, SD, trebuie să reflecte regimul stabilizat de funcţionare al metodei de măsurare (funcţionare stabilă) în condiţiile specifice laboratorului. Valorile acestor limite (respectiv procedurile QC), care sunt multipli de SD, trebuie selectate încât să minimizeze probabilitatea de alarme false şi să maximizeze probabilitatea de alarme adevărate. În consecinţă, o testare corectă impune o determinare corectă a valorilor $\overline{x}$ şi SD ale metodei respective.

Dacă limitele de control în diagrama Levey-Jennings (partea dreaptă din Figura 2.13) se stabilesc corelat cu distrbuţia normală de probabilitate a procesului de măsurare (partea stângă din Figura 2.13) adică multiplide SD, atunci testele de control compară starea de funcţionare a procesului cu starea (variabilitatea) de funcţionare stabilă. Dacă în diagrama Levey-Jennings se stabilesc într-un alt mod limitele de control, atunci prin testare se verifică o stare de funcţionare a procesului de măsurare, dar care nu este corelată cu starea de funcţionare stabilă. Uzual, pentru a se realiza o astfel de corelare limitele de control se stabilesc, în funcţie de parametrii regimului stabilizat $\overline{x}$ şi SD, sub forma $\overline{x} \pm k \cdot SD$.

Determinarea corectă a valorii deviaţiei standard impune ca materialul de control să nu influenţeze, prin variabilitatea sa, variabilitatea procesului de măsurare, adică să aibă o valoare constantă/stabilă în timp şi de la sticluţa la sticluţă. Pentru testele de chimie materialele de control au o valabilitatea de 1-2 ani, pentru testele de hematologie materialele de control sunt stabile pe o perioadă de câteva luni.

Valoarea deviaţiei standard, proprie procesului de măsurare, se determină în laborator prin măsurări repetate totdeauna când un nou ser de control se va utiliza, fie în cazul unei metode care este deja în funcţiune (dar se face o schimbare de lot pentru serul control), fie în cazul când se introduce o nouă metodă. În primul caz se poate testa în paralel cu serul din lotul vechi şi serul din lotul nou, în al doilea caz pentru pornire se folosesc, doar provizoriu, datele de catalog ale serului. Oricum, determinarea valorii deviaţiei standard se face cumulativ. Se porneşte cu 20 de măsurări, care pot fi obţinute intensiv, de exemplu pe durata a cinci zile, şi se calculează o valoare provizorie pentru SD. Apoi, prin acumularea datelor în urma testelor după anumite intervale de timp, pentru toate datele acumulate de la început până în acel moment, se recalculează noile valori de lucru pentru SD; pentru calculul efectuat cu 100 de date colectate se poate considera o valoare potrivită pentru deviaţia standard (în intervalul de timp de acumulare de date nu sunt luate în considerere valorile testelor situate în afara limitelor de control, care indică faptul că metoda nu a fost sub control). O deviaţie standard calculată cu minim 20 de date poate să difere faţă de valoarea adevărată cu până la 30%, calculată chiar şi cu 100 de date diferenţa poate fi de până la 10%.

Utilizarea valorilor din prospectul serului de control poate fi, în general, o practică incorectă (care poate fi folosită doar la început până la adunarea/acumularea datelor necesare calculului unei valori proprii a deviaţiei standard pentru procesul respectiv de măsurare). Valorile pentru serul de control sunt date de producători, în general, prea mari, acestea reflectând variaţiile din mai multe laboratoare diferite; o valoare prea mare pentru deviaţia standard duce la micşorarea numărului de alarme false (de dorit), dar în acelaşi timp reduce capacitatea de detectare a erorilor (nu este dorit). De exemplu, se consideră o metodă pentru determinarea potasiului care la nivelul de 5mmol/L prezintă o deviaţie standard de $SD = 0,1$mmol/L, deci $CV = 2\%$, iar producătorul serului de control prescrie pentru serul de control limitele de $\pm 0,5$mmol/L, adică un interval $4,5 - 5,5$mmol/L.

Aceste limite ale producătorului de ser sunt de cinci ori mai mari decât deviaţia standard proprie a procesului (0,5 : 0,1 = 5), iar prin aplicarea lor regula de control este de fapt 1_{5s} (utilizatorul crezând, probabil, că este $1_{2,5s}$ sau 1_{3s}) o valoare mult prea mare care reduce alarmele false, dar reduce simultan şi capacitatea metodei de detectare a erorilor. De asemenea, utilizarea pentru valoarea medie şi deviaţia standard ale procesului testat de valori care sunt luate de la unele procese de intercomparare, aceste pot să nu fie corecte dacă nu sunt egale cu cele proprii ale procesului testat din laborator. În concluzie, valorile pentru $\overline{x}$ şi SD utilizate pentru fixarea limitelor de control $\overline{x} \pm k \cdot SD$ trebuie să fie determinate pe metoda de testat pentru a exprima corect variabilitatea proprie a procesului de măsurare, alte valori pot fi utilizate doar temporar până se acumulează date suficiente pentru calcul.

- **Numărul, frecvenţa şi poziţionarea testelor pentru o serie de măsurări.** Pentru aceşti parametri QC (numărul, frecvenţa şi poziţionarea testelor, seria de măsurări) informaţiile disponibile în literatură sunt foarte difuze, practic selectarea lor se bazează foarte mult pe experienţa laboratorului.

Lungimea în timp ce corespunde unei serii de măsurare o estimează laboratorul pe baza: stabilităţii procesului de măsurare, numărul (tipic) al probelor de măsurat, fluxul de lucru din laborator, operator, costul reanalizării probelor în caz de încălcare a limitei de control şi de impactul clinic în cazul existenţei unei erori nedectate pentru un interval de timp înaintea următorului test. Stabilitatea analitului în probele de pacient trebuie de asemenea să fie luată în considerare pentru ca în cazul identificării funcţionării în afara controlului (depăşire limită, de exemplu, 1_{3s}) probele să poată fi reanalizate. O serie de măsurări poate fi efectuată în unul din următoarele două moduri: operare pe loturi şi operare continuă.

Numărul, frecvenţa şi poziţionarea testelor în cadrul unei serii de măsurări are o influenţă majoră asupra costului şi asupra apariţiei cazurilor de funcţionare în afara controlului, totodată trebuie respectat principiul că: rezultatele testelor QC se evaluează înainte de raportarea rezultatelor. Modul potrivit de răspuns la apariţia unei stări de funcţionare în afara cotrolului constă în: detectarea cauzei perturbatoare din procedura de măsurare, aplicarea corecţiei necesare şi apoi verificarea corectitudinii corecţiei efectuate prin testarea unui material de control. Dacă rezultatul acestor operaţii de readucere la funcţionare normală a fost cu succes, atunci toate rezultatele efectuate de la ultimul test de control trebuie să fie reevaluate din perspectiva infuenţei erorii asupra interpretării clinice, măsurările care influenţează semnificativ interpretarea clinică trebuie să fie repetate prin utilizarea probelor păstrate.

În conlcuzie, după [22]:

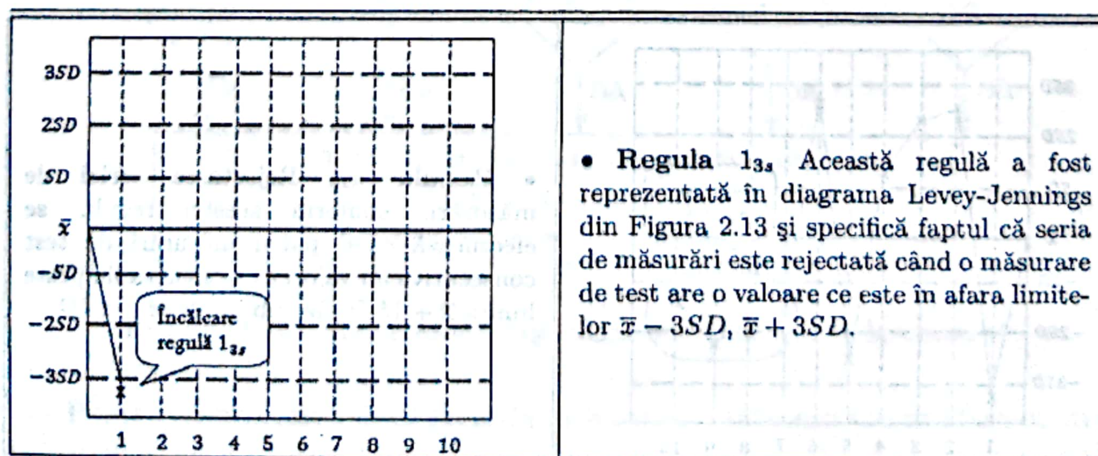
- pentru analize pe loturi testarea poate fi localizată la începutul şi la sfârşitul, dar pot fi teste uniform sau aleatoriu distribuite în acest interval;

- pentru funcţionare continuă se analizează două niveluri, la început pentru a detecta dacă funcţionarea este în limite, apoi testul pentru un nivel în mijloc şi testul pentru celălalt nivel la sfârşit.

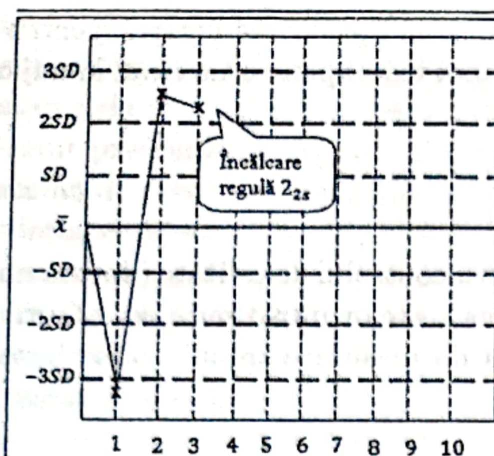
Alegerea exactă a acestor parametrii pentru controlul de calitate (durata unei serii de măsurări, numărul, frecvenţa şi plasarea testelor într-o serie de măsurări) şi apoi implementarea acestora într-un proces de măsurare trebuie să se bazeze mult pe experienţa proprie a laboratorului.

2.5.3 Reguli multiple de control

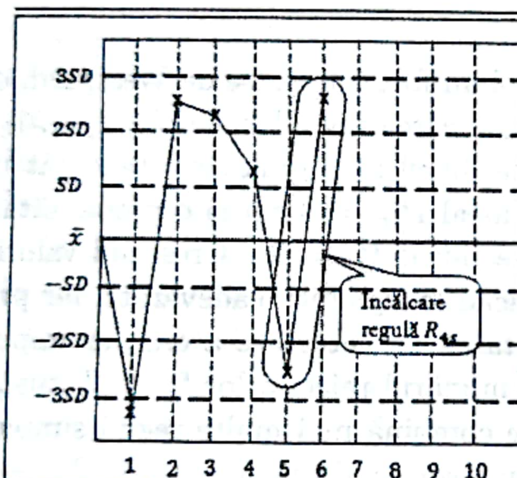
Regulile multiple (multireguli) de control au fost introduse de Westgard, de unde referirea lor ca regulile Westgard. Prin aplicarea regulilor simple, $1_{2,5s}$, 1_{3s}, $1_{3,5s}$ şi a unei valori pentru N, este destul de dificil să obţină simultan atât un număr minim de alarme false/rejectări false (ideal $P_{fr} = 0$) cât şi o probabilitate mare de detectare a erorilor/alarme adevărate (ideal $P_{ed} = 1$). Crescând valorile limitelor de control scad rejectările false dar scad şi rejectările adevărate, iar prin scăderea limitelor de control creşte probabilitatea de detectare a erorilor importante din punct de vedere clinic dar creşte şi numărul rejectărilor false. Totuşi, o optimizare simultană se poate obţine dacă se combină mai multe reguli simple - obţinându-se o regulă multiplă - care poate realiza condiţiile $P_{fr} \to 0$, $P_{ed} \to 1$. Pentru compunerea unei reguli multiple se pot selecta unele din următoarele 5 reguli simple prezentate în contiuare:



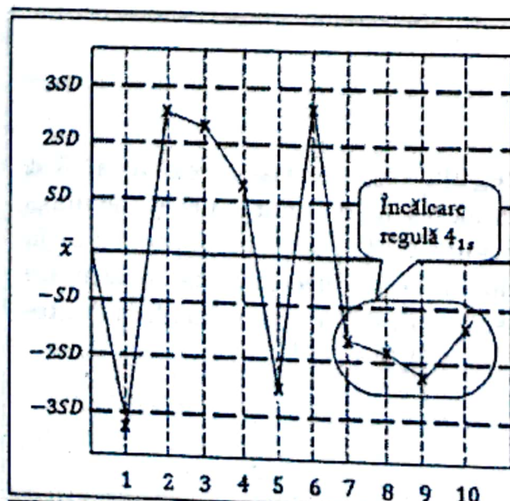
- **Regula** 1_{3s} Această regulă a fost reprezentată în diagrama Levey-Jennings din Figura 2.13 şi specifică faptul că seria de măsurări este rejectată când o măsurare de test are o valoare ce este în afara limitelor $\overline{x} - 3SD$, $\overline{x} + 3SD$.



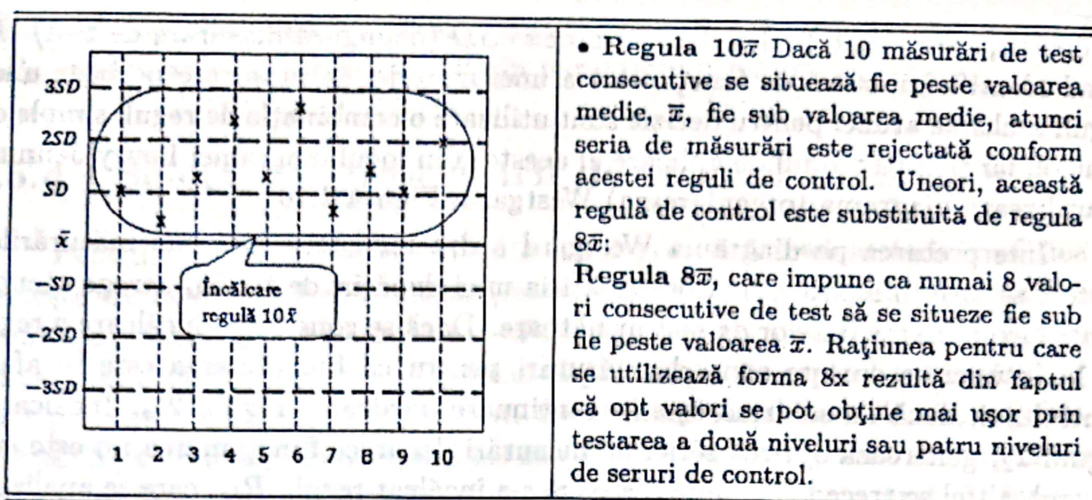
• **Regula 2_{2s}** Această regulă specifică faptul că seria de măsurări este rejectată când două măsurări de test consecutive au valori ce se situează fie peste limita $\bar{x} + 2SD$, fie sub limita $\bar{x} - 2SD$.



• **Regula R_{4s}** Această regulă specifică faptul că seria de măsurări este rejectată când, într-un grup, valoarea unui test depăşeşte limita $\bar{x} + 2SD$, iar celălalt test este sub limita $\bar{x} - 2SD$ (o distanţă de 4s între valorile testelor).



• **Regula 4_{1s}** Rejectarea seriei de măsurări, conform acestei reguli, se efectuează când patru măsurări de test consecutive au valori ce se situează fie peste limita $\bar{x} + 1SD$, fie sub limita $\bar{x} - 1SD$.



Aceste reguli de control prezentate sunt potrivite pentru cazurile când sunt testate două niveluri de seruri de control. Pentru cazurile când sunt testate trei niveluri există un alt set de reguli simple de control.

Se mai utilizează şi **Regula 1_{2s}**, reprezentată în diagrama de control din Figura 2.13, dar aceasta în special **pentru atenţionare.** Încălcarea condiţiei 1_{2s} nu se va utiliza pentru rejectarea seriei de măsurări (la 2.5.2, s-a specificat de ce această regulă nu este recomandată pentru control) ci doar pentru a atenţiona urmărirea dacă în următoarele date de test obţinute se încalcă una din celelalte cinci reguli expuse mai sus.

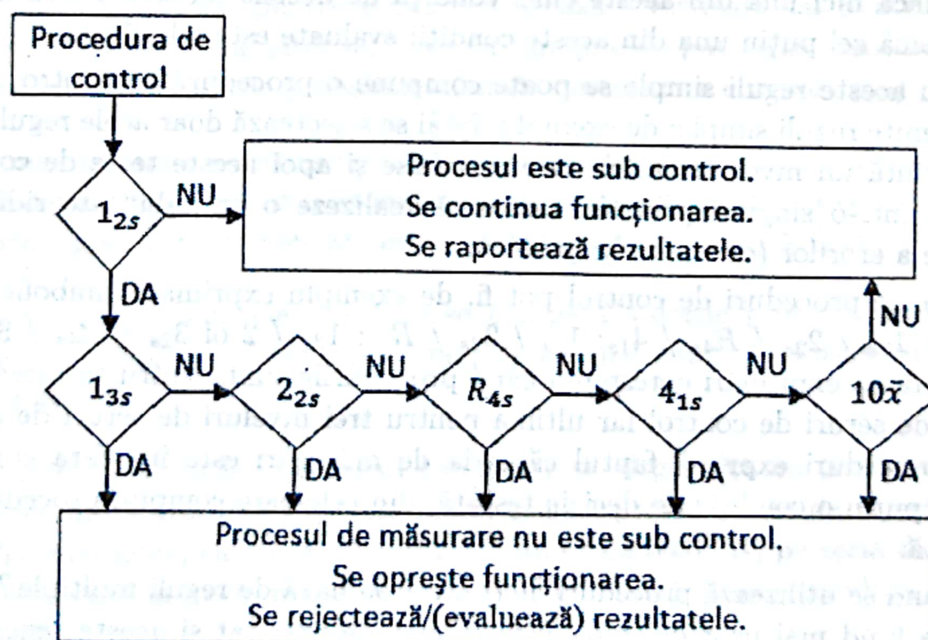


Figura 2.16 Diagrama/Organigrama Westgard de control

Pentru identificarea dacă metoda de măsurare este sub sau în afara controlului se utilizează dagrama Levey-Jennings, în care este utilizat un singur criteriu

de decizie, care este o limită de control $\pm k \cdot SD$ (o singură măsurare de test). În cazul identificării stării de funcţionare a unei metodei de măsurare pe baza unor reguli multiple atunci pentru decizie sunt utilizate o combinaţie de reguli simple de control, iar pentru modul de aplicare al acestora în locul diagramei Levey-Jenning se utilizează diagrama (organigrama) Westgard, Figura 2.16.

Interpretarea pe diagrama Westgard a datelor culese în urma măsurărilor de test se face în modul următor. Apariţia unei depăşiri de tip 1_{2s} atrage atenţia pentru examinarea datelor de test următoare. Dacă se constată o încălcare a regulii 1_{3s} atunci se opreşte seria de măsurări pentru că funcţionarea este în afara controlului, dacă nu se urmăreşte în continuare încălcarea regulii 2_{2s}. Încălcarea regulii 2_{2s} generează oprirea seriei de măsurări deoarece funcţionarea nu este sub control, altfel se trece la examinarea dacă s-a încălcat regula R_{4s}, care se analizează în acelaşi mod ca şi regulile precedente. Toate aceste reguli, pentru care numărul de date de test poate fi $N = 1$ sau 2, se pot interpreta cu citiri de test doar pe o singură serie de măsurări, dar pentru interpretarea următoarelor două reguli, deoarece necesită un număr mai mare de teste ($N = 4$ sau 10), se pot utiliza pentru interpretare, dacă este necesar, şi date de test citite de la seria de măsurări anterioară (ceea ce se specifică prin valoarea variabilei R din tabelele ataşate graficelor funcţiilor putere din Figura 2.15 şi Figura 2.17). În continuare se examinează dacă există patru teste consecutive (4_{1s}) care au valori fie mai mari decât $\overline{x} + 1SD$, fie mai mici decât $\overline{x} - 1SD$ sau dacă zece teste consecutive ($10x$) se situează fie peste valoarea medie $\overline{x}$ fie sub valoarea medie. Funcţionarea metodei de măsurare nu se opreşte dacă nici una din aceste cinci condiţii de decizie nu este adevărată şi se opreşte dacă cel puţin una din aceste condiţii evaluate este adevărată.

Din aceste reguli simple se poate compune o procedură de control alegând doar anumite reguli simple; de exemplu, întâi se selectează doar acele reguli simple care prezintă un nivel scăzut de rejectări false şi apoi aceste teste de control se integrează într-o singură procedură care să realizeze o probabilitate ridicată de detectare a erorilor (de exemplu $\geq 90\%$).

Aceste proceduri de control pot fi, de exemplu exprimate simbolic în felul următor: 1_{3s} / 2_{2s} / R_{4s} / 4_{1s}; 1_{3s} / 2_{2s} / R_{4s}; 1_{3s} / 2 of 3_{2s} / R_{4s} / 3_{1s} / 4_{1s} (primele două exprimări corespund când procedurile sunt pentru testarea a două niveluri de seruri de control iar ultima pentru trei niveluri de seruri de control). Aceste proceduri exprimă faptul că seria de măsurări este în afara controlului când cel putin o condiţie de decizie testată, din cele care compun procedura, este adevărată.

Când se utilizează proceduri de control pe bază de reguli multiple? Regulile simple fiind mai uşor de implementat sunt de preferat şi aceste reguli simple (de exemplu 1_{3s}, $1_{3,5s}$) pot realiza o probabilitate de rejectare falsă sub 1%, mai deficitare sunt în realizarea detectării erorilor sistematice, importante din punct de vedere medical, cu o probabiliate în jur de 90%. Decizia de alegere între o regulă simplă de control şi o regulă multiplă se poate face analizând pentru procesul de

măsurare respectiv: precizia, exactitatea şi impunând valorile cerute pentru P_{fr} şi P_{ed}; aceste aspecte vor fi analizate în paragraful următor.

2.5.4 Selectarea procedurii de control

Pentru selectarea procedurii de control potrivită unei metode analitice se porneşte de la criteriul de calitate (intervalul de decizie clinică, eroarea totală admisă, performanţe de vârf- "state-of-the-art") şi parametrii analitici (precizie şi exactitate) pe baza cărora se determină procedura de control şi numărul N de teste pe o serie de măsurări. De fapt, toate acest variabile (CV, D, regulile de control, N) sunt interdependente şi permit diferite combinaţii care asigură criteriul de calitate fixat, această interdependenţă este exprimată prin graficul funcţiilor putere, care a fost prezentat în Figura 2.15. Etapele pentru selectarea procedurii de control şi a numărului de teste precum şi succesiunea sunt:

1. Se fixează criteriul de calitate şi se calculează, din baza de date de la controlul intern, deplasarea D şi deviaţia standard SD;

2. Se calculează metrica sigma;

3. Pentru valoarea sigma calculată, la punctul 2, se fixează punctul pe scara sigma de pe graficul funcţiior de putere;

4. Prin punctul fixat pentru sigma se trasează o verticală, iar pentru punctele de intersecţie ale acestei verticale cu funcţiile de putere se identifică valorile ordonatelor (valorile probabilităţilor de detectare a erorilor, P_{ed});

5. Sunt candidate pentru selectare doar curbele la care valoarea probabilităţii de detectare a erorilor (ordonata punctului de intersecţie cu verticala trasată prin sigma metric calculat) este mai mare de 90% ($P_{ed} \geq 0,90$);

6. Apoi, pentru curbele selectate se compară valorile probabilităţilor de rejectare falsă, P_{fr} (interceptul/intersecţia curbei funcţie putere cu axa coordonatelor);

7. Dintre procedurile de control candidate se alege: cea cu probabilitatea de detectare a erorilor, P_{ed}, mai mare, cea cu probabilitate de rejectare falsă, P_{fr}, mai mică, care are cel mai mic număr de teste, N, pe seria de măsurări şi cea care are cele mai simple reguli de control (toate simultan dacă este posibil).

Exemplul 2.7 Pentru o metodă de determinare a colesterolului să se aleagă procedura de control şi numărul de teste necesar pe seria de măsurări.

Soluţie: Se vor parcurge etapele enumerate anterior.

1. Valorile de imprecizie şi inexactitate sunt respectiv egale: $SD = 2\%$, $D = 0\%$, calculate din baza de date. Criteriul de performanţă se fixează prin valoarea erorii toatale admise, din Anexa 6 se citeşte $TE_a = \pm 10\%$.

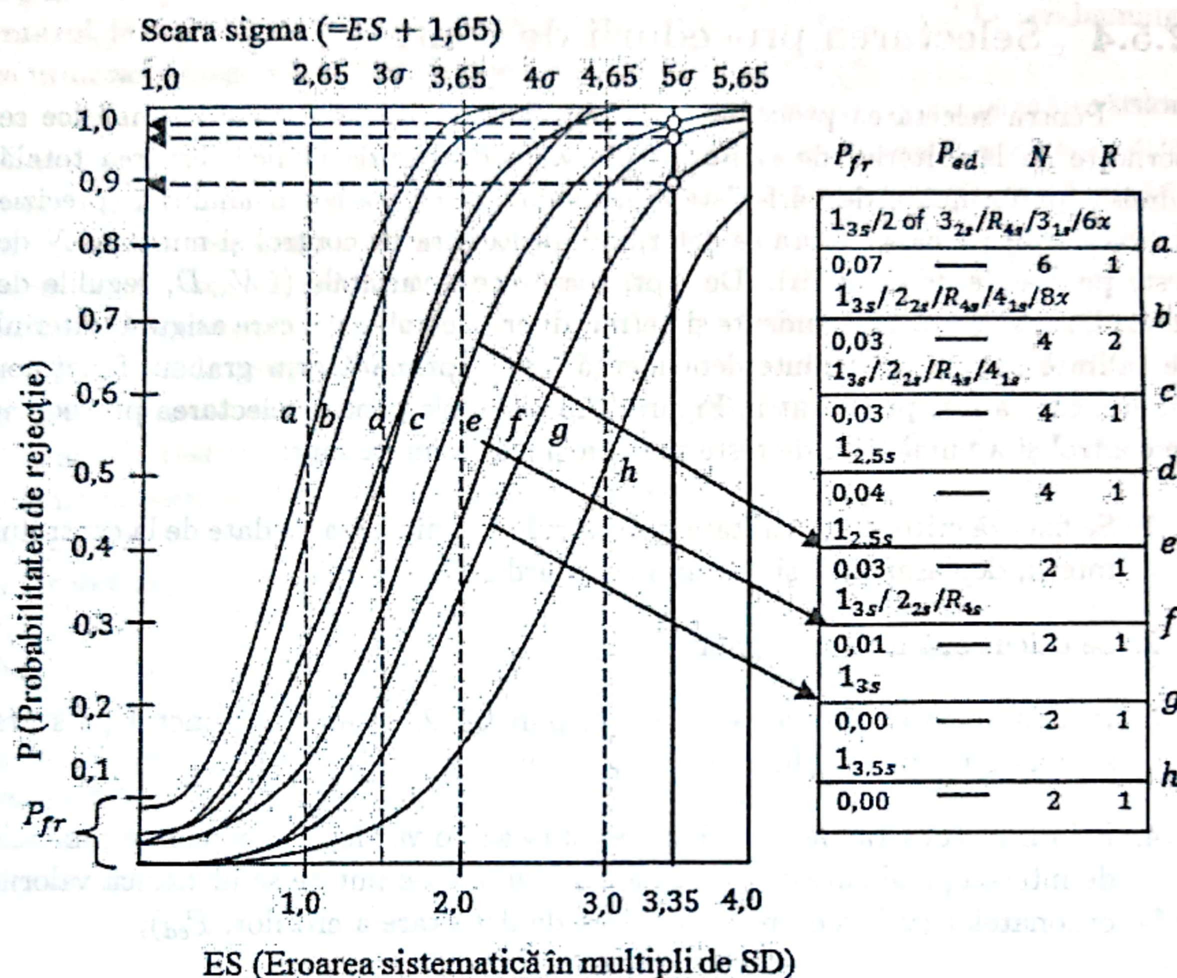


Figura 2.17 **Exemplu de alegere a procedurii de control, pe baza graficului functiilor de putere (două niveluri de ser de control) pentru o metodă de determinare a colesterolului**

2. Metrica sigma se calçulează cu relaţia (2.23)

$$\text{Metrica sigma} = \frac{(TE_a - D)}{CV} = \frac{10,0\% - 0,0\%}{2,0\%} = 5$$

3. Pe graficul funcţiilor putere, (pentru două niveluri de ser de control) din Figura 2.17, se fixează punctul cu valoarea sigma = 5 pe abscisa din partea superioară a graficului (eroare sistematică, $ES = \text{Sigma metric} - 1,65 = 5 - 1,65 = 3,35$).

4. Alegând pentru metodă ca erorile sistematice $\geq 3,35SD$ să fie detectate cu o probabilitate $P_{ed} = 90\%$, atunci punctele de intersecţie de interes, între dreapta verticală dusă prin sigma metric de valoare 5 şi graficele funcţiilor putere, sunt numai cele care corespund procedurilor notate cu e, f şi g.

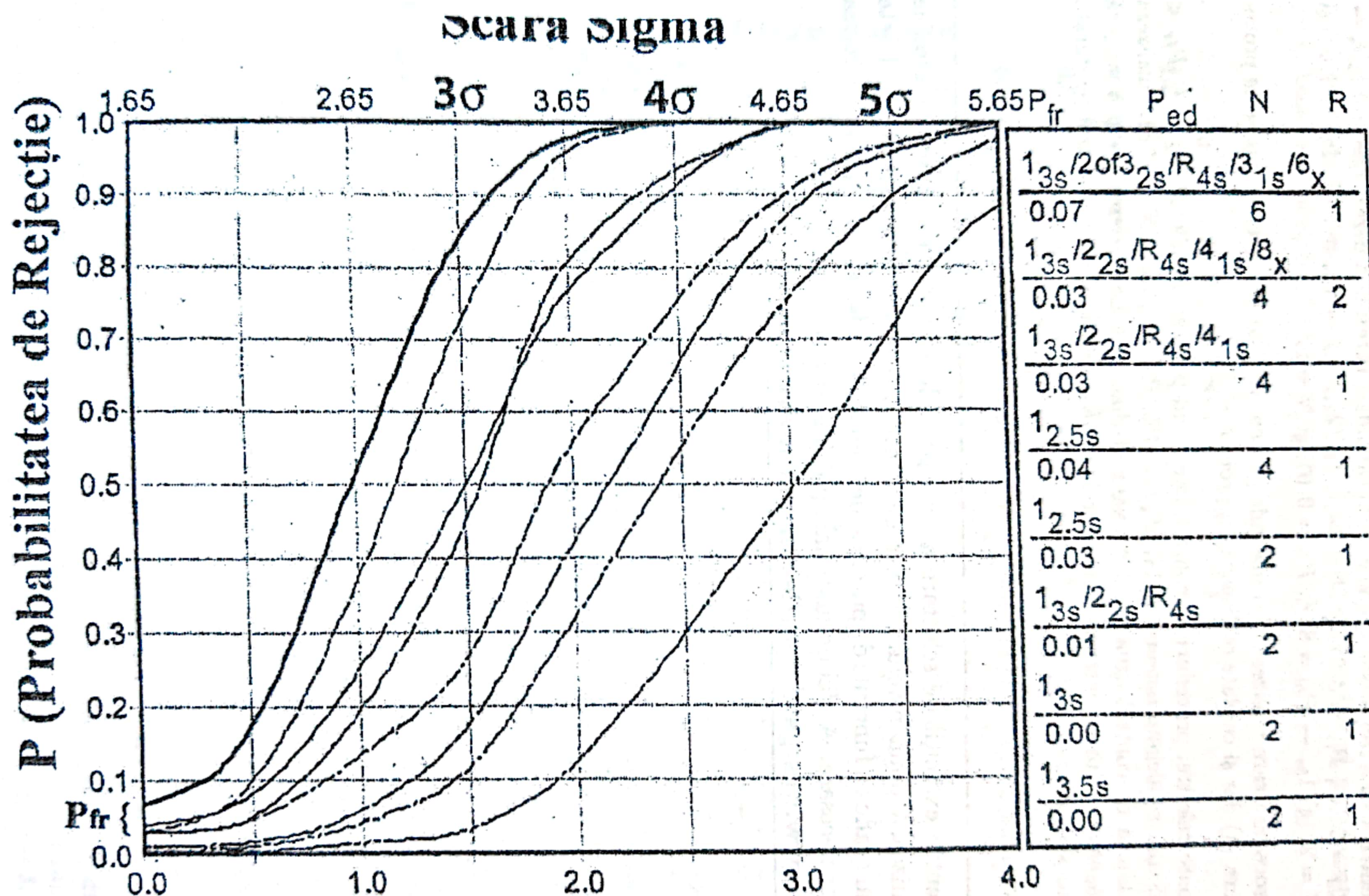
5. Pentru aceste trei proceduri de control candidate corespund parametrii: (e) $1_{2,5s} \rightarrow P_{ed} = 96\%$, $P_{fr} = 3,0\%$ şi $N = 2$; (f) $1_{3s}/2_{2s}/R_{4s} \rightarrow P_{ed} = 94\%$, $P_{fr} = 1,0\%$ şi $N = 2$; (g) $1_{3s} \rightarrow P_{ed} = 87\%$, $P_{fr} = 0,0\%$ şi $N = 2$.

6. Procedura care realizează cel mai mic procent (0,0%) de rejectări false este procedura (g) dar şi celelate realizează un procent < 5%.

7. Toate cele trei proceduri de control corespund pentru metodă, $P_{ed} \approx 90\%$, $P_{fr} < 5\%$, dar se alege procedura g, 1_{3s} ($P_{ed} = 87\%$, $P_{fr} = 0,0\%$ şi $N = 2$) care utilizează o limită de control uzuală, $\pm 3s$, fixată în diagrama Levey-Jennings şi o singură măsurare de test pentru fiecare din cele două niveluri de ser de control pe durata unei serii de măsurări.

(R - este numărul de serii de măsurări din care se culeg cele N date de test).

Pentru exerciţii de selectare a unei proceduri de control, pentru metodele care utilizează două niveluri de ser de control, la sfârşitul acestui capitol este ataşat un grafic cu funcţiile de putere şi de asemenea un tabel pentru sistematizarea calculelor necesare. Astfel de materiale pot fi găsite şi în [22] sau
http://www.westgard.com/lesson4.htmwherepow.


Scara Sigma
1.65
2.65
3σ
3.65
4σ
4.65
5σ
5.65
P (Probabilitatea de Rejecție)
1.0
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
Pfr {
0.0
0.0
1.0
2.0
3.0
4.0
ES (Eroarea sistematică exprimată în multipli de SD)
P_{fr} | P_{ed} | N | R
$1_{3s}/2of3_{2s}/R_{4s}/3_{1s}/6_{x}$
0.07 | 6 | 1
$1_{3s}/2_{2s}/R_{4s}/4_{1s}/8_{x}$
0.03 | 4 | 2
$1_{3s}/2_{2s}/R_{4s}/4_{1s}$
0.03 | 4 | 1
$1_{2.5s}$
0.04 | 4 | 1
$1_{2.5s}$
0.03 | 2 | 1
$1_{3s}/2_{2s}/R_{4s}$
0.01 | 2 | 1
1_{3s}
0.00 | 2 | 1
$1_{3.5s}$
0.00 | 2 | 1

Denumire Test	
Eroarea Totală, TE_a (TE_a în % sau în unităţi de TE_a)	
Nivelul de decizie clinic testat	
Imprecizia calculată, (CV în % sau în unităţi de SD)	
Inexactitatea calculată (D în % sau în unităţi de D)	
$Sigma = \frac{(TE_a\% - D\%)}{CV\%} - 1,65$ sau $Sigma = \frac{TE_a(\text{unităţi}) - D(\text{unităţi}))}{CV\%} - 1,65$	
Procedurile candidate	
Procedura selectată	
Analist	
Data	
Comentariu	


Calculation of Measurement
Uncertainty in Chemistry

Capitolul 3

ESTIMAREA INCERTITUDINII DE MĂSURARE

3.1 NOŢIUNEA DE INCERTITUDINE

Rezultatul măsurării unei probe de pacient pentru concentraţia analitului X este o valoare x. Se pune întrebarea, este aceasta valoarea adevărată a concentraţiei de analit din proba respectivă? Deocamdată se poate da doar următorul răspuns: valoarea x este o estimaţie a concentraţiei a analitului din probă, obţinută în urma măsurării. Dar dacă aparatul de măsurare prezintă o deplasare D atunci rezultatul trebuie corectat cu valoarea $C = -D$ şi se obţine valoarea corectată $x_c = x + C = x - D$, iar acum se poate spune că cea mai bună estimaţie obţinută în urma măsurării analitului X este valoarea x_c. Dar cât de corectă este această afirmaţie? Rămâne, totuşi, o indoială, un dubiu privitor la cât de corect reprezintă acest rezultat corectat valoarea mărimii măsurate, această atitudine asupra validităţii rezultatului exprimat poate fi cuprinsă în noţiunea de incertitudine. Rezultă că *noţiunea de incertitudine, dacă este cuantificată, exprimă calitatea, gradul de încredere în rezultatul măsurării. În această viziune rezultatul unei măsurări este o estimaţie pentru acel măsurand, dar acestei estimaţii trebuie să i se asociaze un parametru cantitativ, adică* ***incertitudinea***.

- **Incertitudinea de măsurare este un parametru, asociat rezultatului unei măsurări, care caracterizează dispersia valorilor ce, în mod rezonabil, pot fi atribuite măsurandului.**

Incertitudinea este necasară pentru a decide dacă rezultatul măsurării este adecvat scopului destinat şi pentru astabili dacă este cosistent cu alte rezultate similare.

Incertitudinea de măsurare este inerentă oricărui proces de măsurare afectat de eroare. Rezultatul unei măsurări este complet numai când este însoţit de specificarea cantitativă a incertidudinii sale. Incertitudinea nu este eroare, incertitudinea şi eroarea (necunoscută) sunt noţiuni diferite, incertitudinea apare ca o exprimare cantitativă a gradului de necunoaştere în procesul măsurării, este un

parametru care caracterizează dispersia valorilor atribuite măsurandului pe baza rezultatelor obţinute în urma măsurărilor.

În practică, valoarea adevărată a unui măsurand este inaccesibilă, dar cu noţiunea de incertitudine de măsurare este posibil să se exprime cu o anumită probabilitate, de exemplu de 95%, pentru o lege de distribuţie normală, un interval în care se situează valoarea adevărată a mărimii măsurate. In concluzie, un rezultat de laborator de analiză cantitativă nu este întradevăr complet dacă nu i se asociază valoarea incertitudinii de măsurare.

Pentru laboratoarele medicale, exprimarea incertitudinii rezultatelor măsurărilor este importantă în raport cu clienţii săi (pacienţi, medici) cu privire la valorile biologice de referinţă şi a pragurile clinice/terapeutice (interpretare clinică). Standardul ISO 15189 specifică la paragraful 5.6.3. *"Laboratorul trebuie să estimeze incertitudinea rezultatelor în cazul când aceasta este pertinentă/rezonabilă şi posibilă..."* . Toate componentele/sursele importante, care intră în compunerea incertitudinii, trebuie luate în considerare. Sursele care pot contribui la valoarea incertitudinii asociată unei măsurări pot fi: eşantionarea probelor, prepararea probelor, selectarea probelor, calibratorii, materialele de referinţă, valoarea mărimii (concentraţie,cantitate) analizate, echipamentul utilizat, condiţiile de măsurare, operator, prelucrarea datelor.

Din expresia, $\epsilon = x - a$, relaţia (2.8), rezultă că eroarea totaă ϵ nu poate fi determinată deoarece nu se cunoaşte valoarea a (doar o valoare convenţională). Atunci, este raţional, ca în locul exprimării calităţii rezultatului unei măsurări printr-o eroare, să se introducă o exprimare prin care calitatea măsurării să se efectueze în funcţie de o mărime care se poate măsura, iar aceasta poate fi prin valorile mărimii măsurată x, asupra cărora se poate face o prelucrare statistică. Ori, o astfel de exprimare rezultă din relatia (2.8) dacă se scrie sub forma $x = a + \epsilon$) (în care mărimea măsurată x (cunoscută) are aceeaşi distribuţie de probabilitate ca şi eroarea totală, ϵ). Această trecere, de la noţiunea de eroare la valoarea mărimii măsurate, trebuie însoţită de introducerea noţiunii de incertitudine, **u, care caracterizează cantitativ calitatea măsurării.** *Incertitudinea, care caracterizează noţiunea de acurateţe (eroarea totală), conţine pentru procesul de măsurare, atât exactitatea cât şi precizia.*

Conform Figurii 2.3 valoarea mărimii măsurate x_i se compune din valoarea (convenţional) adevărată (a), din deplasarea/bias-ul (D), care este cauzată de efectele sistematice (şi care poate fi anulată sau adusă la o valoare aproape de zero prin etalonare/calibrare) şi din eroarea aleatorie (ϵ_a) cauzată de efectele aleatorii. Dar fiecare dintre aceste componente, în estimarea sa, este afectată de o incertitudine asociată (u_1, u_2, u_3); în consecinţă, aceste incertitudini, propagate după o anumită lege, contribuie în calculul incertitudinii estimate totale/compuse, u_c,

pentru mărimea măsurată x_i

$$\begin{array}{lccc} & x_i = a & +\, D & +\, \epsilon_a \\ & \downarrow & \downarrow & \downarrow \\ \text{incertitudini asociate:} & u_1 & u_2 & u_3 \end{array} \qquad (3.1)$$

Acest nou mod de exprimare, în procesul de măsurare, printr-o **incertitudine**, mai ales în practica laboratoarelor medicale, este încă la început, iar interpretarea clinică a unei măsurări însoţite de valoarea incertitudinii întâmpină dificultăţi. *Cuantificarea incertitudinii asociate unei mărimi se face sub forma de abatere standard experimentală şi este referită ca* ***incertitudine standard***.

3.1.1 Metode de estimare a incertitudinii de măsurare pentru metodele analitice cantitative

Variantele de abordare în estimarea incertitudinii rezultă din modalităţile în care se colectează datele şi se prelucrează pentru obţinerea valorii incertitudinii, iar aceste modalităţii se sprijină pe abordări intra sau interlaboratoare; privind în acest fel [6] se pot distinge următoarele patru variante/metode reprezentate în Figura 3.1.

1. **Metoda analitică**, utilizează pentru estimarea valorii incertitudinii de măsurare un model matematic/(relaţie) pentru procesul de măsurare (secţiunea 3.2).

2. **Caracteristicile (metodei)**, utilizează pentru estimarea valorii incertitudinii de măsurare datele din baza de date obţinute prin controlul intern de calitate sau în urma procesului de validare a metodei referitoare la caracteristicile de performanţă ale metodei (repetabilitate, reproductibiltate internă, liniaritate, exactitate, limite etc., vezi secţiunea 2.3).

3. **Performanţele (metodei)**, utilizează pentru estimarea valorii incertitudinii de măsurare o abordare colectivă între laboratoare. Aceasta implică participarea mai multor laboratoare, fiecare utilizând aceeaşi metodă de analiză (peer-group). Incertitudinea estimtă rezultată este, de asemenea, comunnă pentru toate laboratoarelor participante.

4. **Compararea interlaboratoare**, utilizează pentru estimarea valorii incertitudinii de măsurare dispersia/varianţa rezultatelor individulale ale laboratorului în raport cu o valoare ţintă. Determinarea valorii ţintă este responsabilitatea organizatorului structurii de comparare interlaboratoare şi aceasta poate fi obţinută:

   (a) fie independent de rezultatele comparării intrelaboratoare (materiale de referinţă, metode de referinţă etc.);

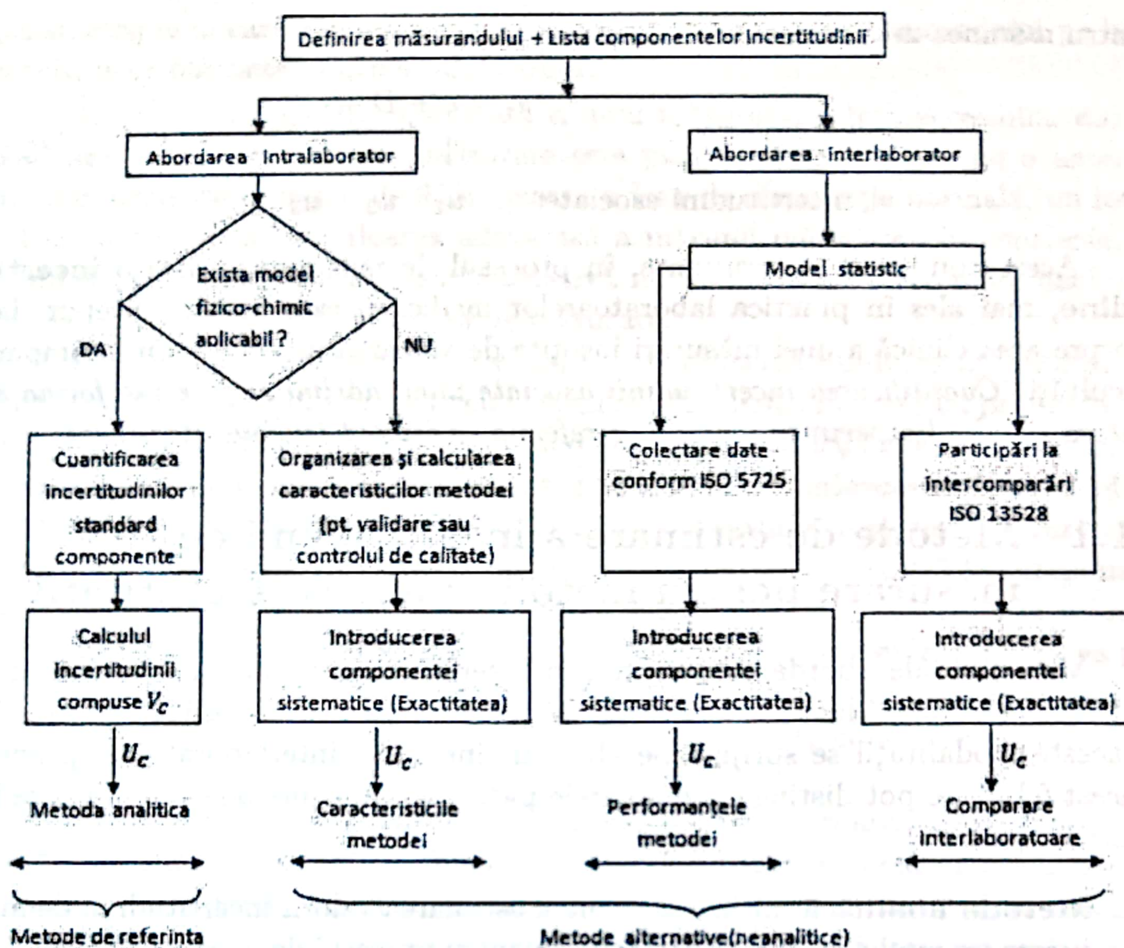


Figura 3.1 **Structurarea modalităţilor de abordare pentru calculul incertitudinii de măsurare**

(b) fie în funcţie de rezultatele comparării interlaboratoare (valoare consensuală ale tuturor laboratoarelor) sau a laboratoarelor care utilizează metode trasabile la SI.

Metodele 2, 3, 4 sunt metode neanalitice deoarece, spre deosebire de prima metodă, nu analizează separat fiecare componentă generatoare de incertitudine din incertitudinea compusă pentru procesul de măsurare. Aceste metode, fără a avea un model matematic explicit al procesului de măsurare, combină cât mai multe componente, în măsura în care este posibil, rezultând pentru incertitudinea compusă doar o componentă pentru efectele sistematice şi la fel o singură componentă pentru cele aleatorii (se estimează în mare şi nu pe detalii).

3.2 ESTIMAREA INCERTITUDINII PRIN METODA ANALITICĂ

3.2.1 Modelul matematic

În cele mai multe cazuri un măsurand Y nu este măsurat direct, ci este determinat indirect, pe baza unor mărimi $X_1, X_2..., X_N$ prin intermediul unei relaţii funcţionale f

$$Y = f(X_1, X_2, \ldots, X_N) \quad (3.2)$$

Mărimile de intrare (variabile) $X_1, X_2, \ldots, X_N$, de care depinde mărimea de ieşire Y, pot fi privite ele însele ca măsuranzi şi pot să depindă, la rândul lor, de alte mărimi, inclusiv de corecţii şi factori de corecţie (vezi Anexa 2) pentru efecte sistematice, ceea ce conduce, astfel, la o relaţie funcţională complicată care, uneori, nu poate fi scrisă explicit. De asemenea, funcţia f poate admite doar o determinare experimentală sau poate exista doar sub forma unui program de calculator. Din această relaţie funcţională se poate obţine o estimare y a măsurandului Y folosind estimaţiile $x_1, x_2, \ldots, x_N$ ale celor N mărimi de intrare $X_1, X_2, \ldots, X_N$, deci estimaţia valorii măsurandului are exprimarea:

$$\begin{array}{ccccccc} y = f(& x_1, & \ldots, & x_2, & \ldots, & x_N &) \\ \downarrow & \downarrow & & \downarrow & & \downarrow & \\ u_c(y) & u(x_1) & & u(x_2) & & u(x_N) & \end{array} \quad (3.3)$$

Din relaţia (3.3) rezultă că estimarea incertitudinii $u_c(y)$ asociată valorii y a măsurandului Y se compune din estimaţiile incertitudinilor $u(x_1), u(x_2), \ldots, u(x_N)$ asociate valorilor de măsurare ale mărimilor de intrare $x_1, x_2, \ldots, x_N$.

Practic, în determinarea incertitudinii măsurandului Y, din estimarea incertitudinilor mărimilor de intrare $X_1, X_2, \ldots, X_N$ pot apărea numeroase surse de incertitudine, care pot include:

- definiţia incompletă a operandului (relaţia funcţională f);
- realizarea incompletă a definiţiei operandului;
- eşantionarea nereprezentativă, adică proba supusă măsurării poate să nu reprezinte măsurandul definit;
- eroarea observatorului/operatorului la citirea mijloacelor de măsurare analogice (paralaxă);
- rezoluţie limitată a mijloacelor de măsurare sau pragul de discriminare al acestora;
- valori inexacte ale etaloanelor şi materialelor de referinţă certificate;

- valori inexacte, ale constantelor şi ale altor parametri, preluate din surse de informare externe şi folosite în algoritmul de prelucrare a datelor;

- aproximaţiile şi presupunerile introduse în metoda şi în procedura de măsurare;

- variaţiile dintre observaţiile repetate ale măsurandului în condiţii aparent identice.

Particularizat pentru procesul de măsurare specific unui laborator medical sursele de erori, deci şi de incertitudine, sunt indicate în desenul din Figura 3.2. Pentru faza preanalitică se pot enumera ca surse: prepararea pacientului, tehnica de prelevare a probelor, transportul şi depozitarea probelor, prepararea eşantioanelor pentru analiză. În faza de analiză surse pot fi: incertitudinea asociată valorii calibratorului şi valorile volumelor măsurate, variaţia loturilor de reactivi şi a materialelor de calibrare, drift-ul şi îmbătrânirea echipamentului, mentenanţa, schimbarea operatorilor, fluctuaţiile de mediu etc. Se poate constata că procesul analitic, figurat prin încercuirea pregnantă, contribuie doar parţial în estimarea incertitudinii, ponderi însemnate având şi celelalte componente: faza preanalitică şi cea postanalitică. Fiecare sursă de incertitudine trebuie analizată separat şi, mai mult, cuantificată separat.
Standardul ISO 15189 specifică la paragraful 5.6.3. Cuantificarea incertitudinii se face sub forma de abatere standard experimentală, sau un multiplu al acesteia, *care poate fi calculată cu relaţia (2.2). Când incertitudinea este exprimată ca o abatere standard, aceasta este referită ca incertitudine standard.* Pentru a se uşura modalităţile de determinare a incertitudinii acestea au fost grupate în două metode de evaluare referite: de tip A şi de tip B.

3.2.2 Evaluarea incertitudinii standard de tip A

Pentru unii măsuranzi se poate obţine experimental un şir de n măsurări independente, iar din dispersia/varianţa datelor obţinute se poate calcula abatere standard experimentală conform relaţiei (2.2). Ca măsură pentru incertitudinea $u(x)$, a unui măsurand X, a cărui distribuţie este cunoscută pe baza celor n date, obţinute experimental (distribuţie de frecvenţă), se consideră abaterea standard experimentală, $s(x)$.

$$u(x) = s(x) = \sqrt{\frac{\sum_{k=1}^{n}(x_k - \overline{x})^2}{(n-1)}} \tag{3.4}$$

Pentru o metodă de măsurare bine caracterizată şi aflată sub control statistic este posibil să existe deja o estimaţie a abaterii standard experimentală s_p (de exemplu, pentru un comparator diferenţial de lungimi prin compararea repetată a unui etalon cu un altul pentru etalonare (măsurand), în general există o abatere

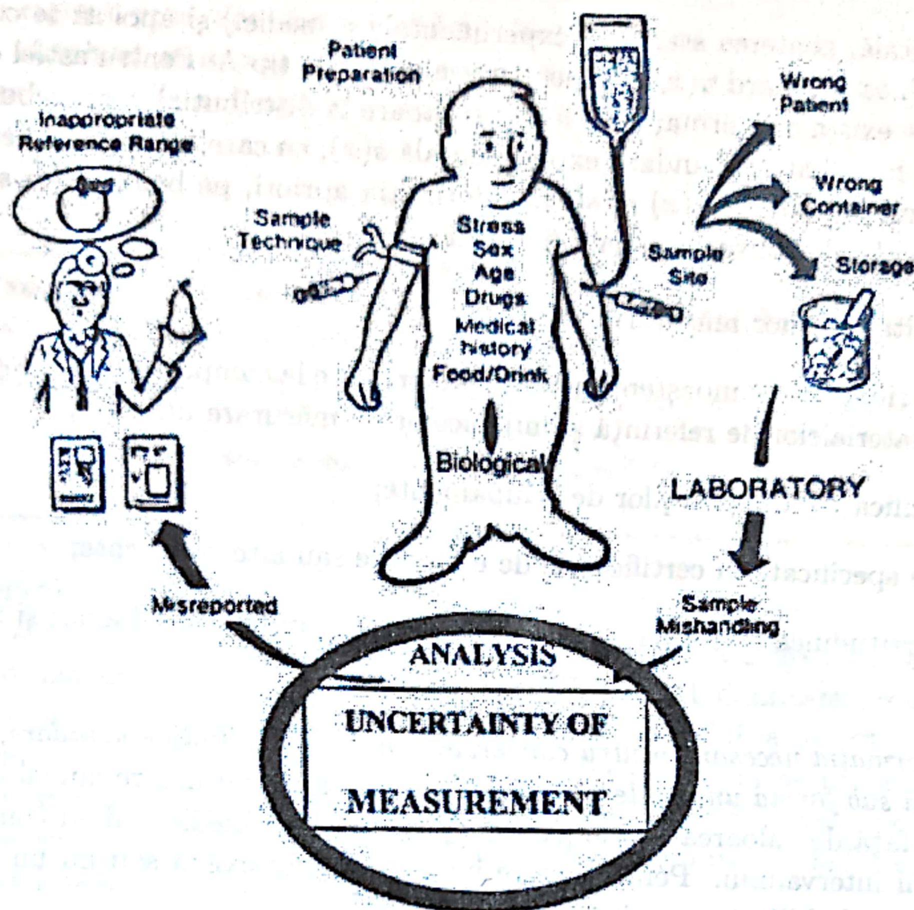


Figura 3.2 Principalele surse de eroare, care pot genera incertitudine în procesele de măsurare într-un laborator de analize medicale [11]

standard experimentală a comparatorului s_p, care poate fi utilizată apoi pentru caracterizarea procesului de măsurare pe acel comparator). Într-un astfel de caz, când se cunoaşte deja s_p, se realizează n observaţii ale măsurandului, cu ajutorul cărora se determină valoarea medie, $\overline{x}$, iar apoi incertitudinea standard a mediei se calculează cu relaţia

$$u = s_p/\sqrt{n} \tag{3.5}$$

Evaluarea de tip A a incertitudinii standard este aplicabilă când, pe baza unui eşantion de n măsurări independente, se poate determina dispersia/varianţa procesului de măsurare, adică deviaţia standard, SD.

3.2.3 Evaluarea incertitudinii standard de tip B

Pentru unele din variabilele X, ale modelului matematic al măsurandului Y, relaţia (3.2) nu este disponibilă o distribuţie normală, pe baza a n măsurări, din care să se determine parametri distribuţiei (media aritmetică, abaterea standard

experimentală, abaterea standard experimentală a mediei) şi apoi să se calculeze incertitudinea standard $u(x_i)$, ca pentru evaluarea de tip A. Pentru astfel de variabile poate exista o informaţie apriori (privitoare la distribuţie) care trebuie să fie convertită la o abatere standard experimentală $s(x)$, cu care, apoi, să se determine incertitudinea standard $u(x) = s(x)$. Informaţia apriori, pe baza căreia se poate realiza o astfel de conversie, poate fi găsită în:

- rezultatele unor măsurări anterioare;
- experienţa sau cunoaşterea generală referitoare la comportarea şi proprietăţile materialelor de referinţă şi mijloacelor de măsurare utilizate;
- specificaţiile fabricanţilor de echipamente;
- date specificate în certificatele de etalonare sau alte certificate;
- incertitudinea atribuită valorilor de referinţă preluate din lucrări şi manuale etc.

Informaţia necesară pentru conversie, spre o incertitudine standard, poate fi prezentată sub forma unui interval; se vor considera în continuare numai intervale simetrice faţă de valoarea medie $|X - \overline{x}| \leq a$, valoarea medie $\overline{x}$ fiind considerată la mijlocul intervalului. Pentru aceste intervale poate exista sau nu un nivel de încredere (probabilitate, exprimată procentual).

1. Distribuţia dreptunghiulară.
Limitele intervalului sunt date sub forma $\pm a$, fără a se specifica un nivel de încredere. Dacă nu există nici o informaţie specifică despre valorile posibile ale lui X_i în interiorul intervalului, atunci se poate presupune că valorile lui X_i se găsesc cu egală probabilitate în oricare punct al intervalului (distribuţie uniformă), cu valoarea medie $\overline{x}$ situată la mijlocul intervalului. Abaterea standard s, care este un estimator fără deplasare a lui σ, se determină cu relaţia (1.12)

$$u(x) = \sigma = \frac{a}{\sqrt{3}} \tag{3.6}$$

Exemplul 3.1 În certificatul însoţitor al unui metal (Cd) se specifică puritatea acestuia $99,99 \pm 0,01\%$ ($P = 0,9999 \pm 0,0001$).

Soluţie: Incertitudinea standard $u(P)$ egală cu abaterea standard σ şi are valoarea:

$$u(P) = \sigma = a/\sqrt{3} = 0,0001/\sqrt{3} = 0,000058 \text{ mL}$$

---

2. Distribuţia triunghiulară.
Se pot indica limitele intervalului fără a se specifica un nivel de încredere, dar

există o raţiune prin care se consideră că: înspre limitele extreme ale intervalului valorile variabilei sunt mai puţin probabile decât în zona centrallă; în astfel de cazuri se presupune o distribuţie triunghiulară cu o abatere $\sigma = a/\sqrt{6}$, conform relaţiei (1.17)

$$u(x) = \sigma = \frac{a}{\sqrt{6}}$$

Exemplul 3.2 Volumul de 10 mL (Grad A) al unui flacon este certificat cu ±0,2 mL.

Soluţie: Incertitudinea standard $u(v)$ egală cu abaterea standard σ care are valoarea:

$$u(v) = \sigma = a/\sqrt{6} = 0,2/\sqrt{6} \approx 0,08 \text{ mL}$$

3. Interval $\pm a$ cu un nivel de încredere p.

În general se consideră că în interiorul intervalului există o distribuţie normală. Pentru o distribuţie normală pe baza TABELULUI 1.1 dându-se probabilitatea (nivelul de încredere) se poate determina limitele intervalului (acoperit prin această probabilitate), - problema inversă - sau dându-se intervalul se poate determina probabilitatea distribuţiei (nivelul de încredere) din acest interval - problema directă - secţiunea 1.2.2. Pentru nivelurile de încredere (p) uzuale în TABELUL 3.1 sunt date intervalele corespunzătoare $\pm a$.

TABELUL 3.1

Nivel de încredere p [%]	Intervalul $\pm a$ $[\times\sigma]$
50	0.66 σ
68,27	1.00 σ
90	1.645 σ
95	1.960 σ
95,45	2.00 σ
99	2.576 σ
99,73	3.00 σ

Exemplul 3.3 Specificaţia pentru citirile unei balanţe este ± 0,2 mg pentru un nivel de încredere 95%.(vezi EXEMPLUL 1.3)

Soluţie: Se consideră în interiorul intervalului $\pm a = 0,2$ mg o distribuţie normală. Pentru o distribuţie normală, unui nivel de încredere de 95%, din tabelul 3.1, corespunde un interval de $\pm 1,96\sigma$; din egalitatea $0,2\text{mg} = 1,96\sigma$ rezultă incertitudinea standard $u(m) = s(m) = \sigma = 0,2 \text{ mg}/1,96 \approx 0,1$ mg.

În TABELUL 3.2 sunt sintetizate modalităţile de calcul pentru incertitudi-

nea standard.

TABELUL 3.2.

DISTRIBUŢIA DREPTUNGHIULARĂ		
Densitatea de probabilitate $f(X)$	Informaţia disponibilă poate fi:	
$2a(=\pm a)$; $1/2a$; X; $\bar{x}-a$, $\bar{x}$, $\bar{x}+a$	• Într-un certificat sau în alte specificaţii se dau limitele, fără a se specifica nivelul de încredere (de exemplu 25 ml ± 0,05 ml). • O estimare sub forma unui interval maxim ($\pm a$), fără nici o informaţie despre forma de distribuţie în interiorul intervalului.	$u(x) = \frac{a}{\sqrt{3}}$

DISTRIBUŢIA TRIUNGHIULARĂ		
Densitatea de probabilitate $f(X)$	Informaţia disponibilă poate fi:	
$2a(=\pm a)$; X; $\bar{x}-a$, $\bar{x}$, $\bar{x}+a$	• Informaţia disponibilă privitoare la variabila X este mai puţin limitată decât la o distribuţie rectangulară. Valorile mai apropiate de $\bar{x}$ sunt mai probabile decât valorile apropiate de limite. • O estimare sub forma unui interval maxim ($\pm a$), cu o distribuţie simetrică.	$u(x) = \frac{a}{\sqrt{6}}$

DISTRIBUŢIA NORMALĂ		
Densitatea de probabilitate $f(X)$	Informaţia disponibilă poate fi:	
2σ; X; $\bar{x}$	• Estimarea se face pe baza unor măsurări repetate pe un proces aleatoriu.	$u(x) = s(x)$
	• Incertitudinea este data sub forma: unei abateri standard s, unei abateri standard relative $s/\bar{x}$ (relaţia 2.3) sau coeficient de varianţă $CV\%$, fără specificarea distribuţiei.	$u(x) = s(x)$ $u(x) = x \cdot \left(\frac{s(x)}{\bar{x}}\right)$ $u(x) = x \cdot \left(\frac{CV\%}{100}\right)$
	• Un interval însoţit de un nivel de încredere fără a se specifica distribuţia, de exemplu: - $x \pm a$ cu nivel de încredere 95,45% - $x \pm a$ cu nivel de încredere 95,7%	$u(x) = a/2$ $u(x) = a/3$

3.2.4 Calculul incertitudinii standard compusă

Incertitudinea estimării valorii măsurandului Y, notată cu $\mathbf{u_c(y)}$ - referită ca **incertitudine compusă** - depinde de incertitudinile $u(x_i)$ ale estimărilor valorilor $x_1, x_2, \ldots, x_i \ldots, x_N$ pentru variabilele $X_1, X_2, \ldots, X_i, \ldots, X_N$ din relaţia 3.2. O incertitudine $u(x_i)$, a unei variabile X_i, influenţează incertitudinea compusă printr-un coeficient c_i, deci intervine cu valoarea $c_i \cdot u(x_i)$. Dar, dacă variabilele X_i sunt corelate (se influenţează reciproc) atunci în calculul valorii lui $u_c(y)$ intervin şi incertitudinile relaţiei de influenţare dintre variabilele X_i; deci în abordarea incertitudinii compuse trebuie să se distingă două cazuri pentru calculul acesteia: cu mărimi de intrare necorelate (independente) şi cu mărimi de intrare corelate.

1. Calculul incertitudinii compuse cu mărimi de intrare necorelate.
O incertitudine $u_i(x)$ a unei variabile X_i influenţează incertitudinea compusă proporţional cu un **coeficient de sensibilitate** $\mathbf{c_i}$, deci intervine cu valoarea $c_i \cdot u(x_i)$. Calculul incertitudinii compuse se bazează pe legea generală a propagării erorilor din teoria calculului, care aplicată pentru incertitudini se exprimă prin: *dispersia/varianţa măsurandului Y este egală cu suma dispersiilor/varianţelor variabilelor* X_i. Dar, deoarece ca măsură a incertitudinii este abaterea standard experimentală, care la pătrat este egală cu dispersia/varianţa (vezi relaţia 1.3) înseamnă că pătratul incertitudinii compuse $u_c^2(y)$ este egal cu suma pătratelor $u^2(x_i)$ incertitudinilor variabilelor X_i, adică o exprimare prin următoarea relaţie:

$$u_c^2(y) = \sum_{i=1}^{N} [c_i \cdot u(x_i)]^2 = \sum_{i=1}^{N} u_i^2(y) \tag{3.8-a}$$

sau

$$u_c(y) = \sqrt{\sum_{i=1}^{N} [c_i \cdot u(x_i)]^2} = \sqrt{\sum_{i=1}^{N} u_i^2(y)} \tag{3.8-b}$$

unde s-a notat $c_i \cdot u(x_i) = u_i(y)$

Fizic, coeficientul de sensibilitate c_i exprimă cantitativ variaţia Δy obţinută în valoarea estimaţiei lui Y produsă de o variaţie Δx_i a variabilei de intrare X_i. Coeficienţii c_i se pot determina:

1. **ca derivate parţiale** ale funcţiei f în raport cu fiecare variabilă de intrare X_i.

$$c_i = \frac{\partial f}{\partial x_i} \tag{3.9-a}$$

şi atunci relaţia (3.8-b) se poate rescrie

$$u_c(y) = \sqrt{\sum_{i=1}^{N} \left(\frac{\partial f}{\partial x_i}\right)^2 \cdot u_i^2(x_i)} \tag{3.9-b}$$

sau

2. **pe cale experimentală.** Experimental, se măsoară variaţia Δy produsă de o variaţie Δx_i (când celelalte variabile de intrare sunt menţinute constante) şi se calculează raportul $c_i = \Delta y / \Delta x_i$.

Relaţia de calcul (3.8-b) pentru incertitudine compusa $u_c(y)$ se reduce la expresii relativ simple (când $c_i = 1$) pentru următoarele două forme uzuale ale funcţiei f.

Regula 1. Funcţia f este numai sume/diferenţe de variabile de intrare

$$Y = X_1 + X_2 - X_3 + X_4 - \ldots$$

Incertitudinea compusă se calculează cu relaţia:

$$u_c(y) = \sqrt{u_1^2(y) + u_2^2(y) + u_3^2(y) + u_4^2(y) + \ldots} \quad (3.10\text{-a})$$

- Se observă că, în relaţia incertitudinii compuse, $u_c(y)$, diferenţele sunt tratate în acelaşi mod ca şi sumele.

Exemplul 3.4 Calculul concentraţiei de LDL-colesterol, se efectuează cu formula lui Frederikson

Concentraţie LDL-colesterol = Colesterol total - (HDL-colesterol + Trigliceride/2,2) mmol/L

Estimarea incertitudinii compuse u_{cLDL}, pentru LDL-colesterol calculat, conform relaţiei (3.10-a) se obţine

$$u_{cLDL} = \sqrt{u_{Colt}^2 + u_{HDL}^2 + u_{Trig}^2}$$

în care u_{Colt}, u_{HDL}, u_{Trig} sunt respectiv incertitudinile componente respectiv pentru Colesterol-total, HDL-colesterol şi Trigliceride.

Pentru un pacient având concentraţiile: Colesterol total = 5,8 mmol/L, HDL-colesterol = 1,08 mmol/L şi Trigliceride = 1,60 mmol/L, iar din controlul intern de calitate sunt calculate incertitudinile componente $u_{Colt} = 0,16$, $u_{HDL} = 0,04$, $u_{Trig} = 0,07$ rezultă valoarea concentraţiei pentru LDL-colesterol

$$\text{Concentraţie LDL-colesterol} = 5,8 - 1,08 - 0,72 = 4,0\text{mmol/L}$$

şi valoarea incertitudinii compuse u_{cLDL}

$$u_{cLDL} = \sqrt{0,16^2 + 0,04^2 + 0,07^2} = \sqrt{0,0321} = 0,17 \text{ mmol/L}$$

Rezultatul se raportează, pentru $k = 2$, $U = k \cdot u_{cLDL} = 2 \cdot 0,17 = 0,4$ mmol/L sub forma:

$$\text{Concentraţie LDL-colesterol} = 4,0 \pm 0,4\text{mmol/L, pentru k = 2}$$

Regula 2. Funcţia este numai produse/rapoarte de variabilele de intrare:

$$Y = X_1 \cdot X_2 \cdot X_3 \cdot \ldots \quad \text{sau} \quad Y = \frac{X_1}{X_2 \cdot X_3 \cdot X_4 \cdot \ldots}$$

Incertitudinea compusă se calculează cu relaţia:

$$\frac{u_c(y)}{y} = \sqrt{\left(\frac{u(x_1)}{x_1}\right)^2 + \left(\frac{u(x_2)}{x_2}\right)^2 + \left(\frac{u(x_3)}{x_3}\right)^2 + \left(\frac{u(x_4)}{x_4}\right)^2 + \ldots} \quad (3.10\text{-b})$$

- Se observă că, în relaţia incertitudinii compuse relative, $\frac{u_c(y)}{y}$, împărţirea este tratată în acelaşi mod ca şi înmulţirea.

Exemplul 3.5 Clairence-ul renal, C, pentru creatinină se calculează cu relaţia:

$$C = \frac{U \cdot V}{P \cdot t} \ \text{[mL/s]}$$

în care:

C - Clairence-ul renal [mL/s];

P - Concentraţia de creatinină plasmatică [mmol/L];

U - Concentraţia de creatinină urinară [mmol/L];

V - Volumul de urină [mL];

t - Durata de colectare [s]

Pentru valorile acestor mărimi, obţinute prin măsurare şi a incertitudinilor lor asociate calculate/estimate

$P = 0{,}1$ mmol/L $u_P = 0{,}004$ mmol/L

$U = 10{,}0$ mmol/L $u_U = 0{,}5$ mmol/L

$V = 1500$ mL $u_V = 100$ mL (estimaţie)

$t = 86400$ s (în 24 ore) $u_t = 1800$ s (estimaţie)

să se calculeze valoarea clairence-ului renal, C, şi incertitudinea compusă, u_{clair}. Conform relaţiei clairence-ului renal şi a relaţiei pentru incertitudinea compusă 3.10-b se obţine

$$C = \frac{10 \cdot 1500}{0{,}1 \cdot 86400} = 1{,}74 \text{ mL/s} \quad (104 \text{ mL/min})$$

$$u_{clair} = C\sqrt{\left(\frac{u_U}{U}\right)^2 + \left(\frac{u_V}{V}\right)^2 + \left(\frac{u_P}{P}\right)^2 + \left(\frac{u_t}{t}\right)^2} =$$

$$= 1{,}74\sqrt{\left(\frac{0{,}5}{10}\right)^2 + \left(\frac{100}{1500}\right)^2 + \left(\frac{0{,}004}{0{,}1}\right)^2 + \left(\frac{1800}{86400}\right)^2} = 0{,}165 \text{ mL}$$

Clairence-ul renal se poate raporta:

$$C = 1,74 \pm 0,33 \text{ mL/s, pentru } k = 2 \text{ sau } C = 104 \pm 20 \text{ mL/min}$$

---

2. Calculul incertitudinii standard compusă cu mărimi de intrare corelate.

Dependenţa mutuală a două variabile aleatorii X_i şi X_j este exprimată prin noţiunea de covarianţă, $\mathbf{cov(X_i, X_j) = cov(X_j, X_i)}$. Gradul de corelaţie între variabile este introdus cantitativ prin parametrul $r(x_i, x_j)$ denumit **coeficient de corelaţie** care are următoarea expresie

$$r(x_i, x_j) = \frac{cov(x_i, x_j)}{u(x_i) \cdot u(x_j)} \tag{3.11}$$

şi are valoarea $-1 \leq r(x_i, x_j) \leq +1$; pentru $r(x_i, x_j) = 0$ variabilele x_i, x_j nu sunt corelate (au variaţii independente).

Pentru două variabile x_i şi x_j cu variaţie aleatorie pe baza a n perechi de măsurări simultane şi în aceleaşi condiţii se calculează valorile medii $\overline{x}_i$ şi $\overline{y}_i$, relaţia (2.2), atunci $cov(x_i, x_j)$ se determină cu abaterea standard experimentală, $s(\overline{x}_i, \overline{y}_i)$, pentru două variabile conform relaţiei următoare:

$$cov(x_i, x_j) = s(\overline{x}_i, \overline{x}_j) = \frac{1}{N(N-1)} \sum_{k=1}^{N} (x_{ik} - \overline{x}_i)(x_{jk} - \overline{x}_j) \tag{3.12}$$

deci relaţia (3.11) poate fi calculată şi în felul următor:

$$r(x_i, x_j) = r(\overline{x}_i, \overline{x}_j) = \frac{s(\overline{x}_i, \overline{x}_j)}{s(\overline{x}_i) \cdot s(\overline{x}_j)} \tag{3.13}$$

Cu ajutorul relaţiei(3.13) se calculează valoarea coeficientului de corelaţie $r(x_i, x_j)$; valorile pentru $s(\overline{x}_i, \overline{x}_j)$ se obţin cu relaţia (3.12), iar valorile pentru $s(\overline{x}_i)$ şi $s(\overline{x}_j)$ se obţin cu relaţia (2.5). Coeficientul de corelaţie $r(x_i, x_j)$ se poate determina şi experimental în felul următor: se produce o variaţie Δx_i a variabilei x_i şi se măsoară variaţia Δx_j produsă variabilei x_j; valoarea coeficientului se obţine cu relaţia:

$$r(x_i, x_j) = \frac{u(x_i) \cdot \Delta x_j}{u(x_j) \cdot \Delta x_i} \tag{3.14}$$

Relaţia pentru calculul incertitudinii compusă $u_c(y)$, pentru cazul când există variabile corelate, se obţine din relaţia (3.8-b) pentru variabile de intrare necorelate, la care se adaugă un termen pentru efectele de corelare, sub forma următoare:

$$u_c(y) = \sqrt{\sum_{i=1}^{N} [c_i \cdot u(x_i)]^2 + 2 \sum_{i=1}^{N-1} \sum_{j=i+1}^{N} [c_i \cdot u(x_i)] \cdot [c_j \cdot u(x_j)] \cdot r(x_i, x_j)} \quad (3.15)$$

Termenul al doilea de sub radical este zero, când variabilele sunt necorelate, deoarece coeficientul de corelaţie respectiv este nul, $r(x_i, x_j) = 0$.

- Între două mărimi de intrare poate exista o corelaţie semnificativă, dacă pentru măsurarea lor se foloseşte acelaşi mijloc de măsurare, acelaşi etalon fizic sau aceeaşi data de referinţă care are o incertitudine standard semnificativă; în următoarele două exemple se prezintă astfel de cazuri.

Exemplul 3.6 Uneori, este nevoie să se determine o corecţie de temperatură pentru estimarea valorii unei marimi de intrare x_i şi, în acest scop, se foloseşte un termometru. Dacă pentru pentru o corecţie similară, pentru estimarea valorii unei altei mărimi de intrare, x_j, se foloseşte acelaşi termometru, atunci cele doua mărimi x_i şi x_j pot fi corelate în mod semnificativ.

Exemplul 3.7 În general, în procesele de etalonare prin comparare, valorile estimate ale entităţilor etalonate sunt corelate. Gradul de corelare, ale acestor entităţi etalonate, depinde de raportul dintre incertitudinea procesului de comparare şi incertitudinea etalonului/materialului de referinţă. În practică, incertitudinea procesului de măsurare este neglijabilă în raport cu incertitudinea etalonului, în acest fel rezultă că incertitudinea asociată entităţii etalonate este egala doar cu incertitudinea etalonului.

Interdependenţa a două variabile, x_i şi x_j, prin intermediul unei mărimi/element de influenţă (în Exemplul 3.6 şi 3.7 termometrul, respectiv etalonul/materialul de referinţă), în practică, se consideră, cu o interdependenţă neglijabilă; în consecinţă, se admite că variabilele x_i şi x_j nu sunt corelate.

Se recomndă ca pentru efectuarea calculelor, în estimarea incertitudinii compuse, să se utilizeze o structurare ca cea dată în tabelul bugetului de incertitudine, TABELUL 3.3

TABELUL 3.3 Bugetul de incertitudine

Simbol componentă	Valoare componentă	Unitate de măsură [ ]	Tip de incert.	Incertitudine standard $u(x_i)$	Coeficient de Sensibilitate $\|c_i\|$	Contribuţia fiecărei componente	
						Absolută	Relativă, %
X_1	x_1	$[x_1]$	Tip A	$u(x_1)$	$\|c_1\|$	$c_1^2 \cdot u^2(x_1)$	$\frac{c_1^2 \cdot u^2(x_1)}{\sum_{i=1}^{N} c_i^2 \cdot u^2(x_i)} \cdot 100$
X_2	x_2	$[x_2]$	Tip B	$u(x_2)$	$\|c_2\|$	$c_2^2 \cdot u^2(x_2)$	$\frac{c_2^2 \cdot u^2(x_2)}{\sum_{i=1}^{N} c_i^2 \cdot u^2(x_i)} \cdot 100$
⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮
X_N	x_N	$[x_N]$	Tip B	$u(x_N)$	$\|c_N\|$	$c_N^2 \cdot u^2(x_N)$	$\frac{c_N^2 \cdot u^2(x_N)}{\sum_{i=1}^{N} c_i^2 \cdot u^2(x_i)} \cdot 100$
Y	y	$[y]$		$\sqrt{\sum_{i=1}^{N} c_i^2 \cdot u^2(x_i)}$			$u_c(y) = \ldots$

3.2.5 Incertitudinea extinsă

Pentru calculul incertitudinii standard compusă $u_c(y)$, (relaţia 3.15 sau simplificată 3.8-b) se consideră incertitudinile $u(x_i)$ ale tuturor variabilelor X_i din relatia (3.2), care au valori semnificative. Aceste incertitudini $u(x_i)$ sunt fie de tip A, fie de tip B - adică au fost deduse pentru variabile aleatoare cu o distribuţie de probabilitate normală (bazate pe observaţii repetate), respectiv pentru variabile cu o ditribuţie dreptunghiulară sau triunghiulară (bazate pe informaţie apriori). Dar, în general, distribuţiile considerate normale sunt, în majoritatea cazurilor, aproximativ normale deoarece sunt determinate pentru un număr de observaţii relativ redus şi nu pentru un număr de observaţii (teoretic) infinit, ceea ce ar corespunde distribuţiei (adevărat) normale, relaţia (1.1). Estimarea distribuţiei aproximativ normale printr-o distribuţie (adevărat) normală are credibilitate numai dacă numărul de grade de libertate ν, al variabilei aleatorii respective, are o valoare ridicată. Pentru o singură variabilă aleatorie, estimată prin media aritmetică, relaţia (2.1), pe baza a n observaţii independente, **numărul de grade de libertate** (vezi pag. 45) se calculează cu următoarea relaţie

$$\nu = n - 1 \tag{3.16}$$

Se pune întrebarea: prin compunera/(convoluţia) distribuţiilor de probabilitate ale variabilelor X_i , a căror incertitudini intră în calculul incertitudinii compuse, $u_c(y)$, care este distribuţia de probabilitate rezultată pentru măsurandul Y, din relaţia (3.2); răspunsul la această întrebare este dat de teorema limitei centrale.

• **Teorema limitei centrale** arată că: dacă funcţia y este o functie liniară de variabilele X_i

$$Y = c_1X_1 + c_2X_2 + \ldots + c_iX_i + \ldots + c_NX_N = \sum_{i=1}^{N} c_iX_i \qquad (3.17)$$

şi dacă variabilele X_i sunt caracterizate prin distribuţii de probabilitate normală, atunci şi distribuţia rezultată a lui Y este, de asemenea, normală. Mai mult, chiar dacă variabilele X_i nu au o distribuţie normala, totuşi, distribuţia lui Y tinde/converge către o distribuţie normală şi acestă tendinţă este cu atât mai pronunţată spre o distribuţie normală cu cât numărul componentelor incertitudinilor $u(x_i)$, care intră în calculul incertitudinii compuse, $u_c(y)$, este mai mare şi valorile acestor componente de incertitudine sunt mai apropiate între ele. Conform teoremei limitei centrale, de exemplu, chiar şi compunerea/convoluţia a trei distribuţii dreptunghiulare de lărgime egală va produce o distribuţie aproximativ normală (estimată ca o distribuţie normală). Pe baza acestei teoreme, care arată că distribuţia rezultată pentru măsurandul Y, prin compunere incertitudinilor componente, poate fi considerată ca o distribuţie normală, deci pentru această distribuţie rezultată se poate determina un interval Δ în care, cu o probabilitate dată p, sunt situate valorile măsurandului Y (problema inversă, secţiunea 1.2.2).

• Cu toate că incertitudinea compusă, $u_c(y)$, poate fi folosită universal pentru exprimarea incertitudinii rezultatului unei măsurări, în unele aplicaţii este, deseori, nevoie să se dispună de o măsură a incertitudinii care să definească, în jurul rezultatului y al măsurării, *un interval în care să se poată considera că este cuprinsă o mare parte a distribuţiei valorilor ce, în mod rezonabil, pot fi atribuite măsurandului* Y. În această abordare, pentru exprimarea incertitudinii, care să satisfacă cerinţa de a oferi un interval în jurul valorii măsurandului, este introdusă noţiunea de **incertitudine extinsă** (sau globală), **care este notată cu U**. Incertitudinea extinsă se obţine prin multiplicarea incertitudinii standard compusă, $u_c(y)$, cu un factor de extensie k

$$U = k \cdot u_c(y) \qquad (3.18)$$

Rezultatul măsurării se exprimă, acum, sub forma

$$Y = y \pm U = y \pm k \cdot u_c(y) \qquad (3.19\text{-a})$$

sau

$$y - U \leq Y \leq y + U \qquad (3.19\text{-b})$$

Această formă de exprimare a rezultatului măsurării se interpretează astfel: *cea mai bună estimaţie a valorii atribuite măsurandului* Y *este* y, *iar de la* $y - U$ *până la* $y + U$ *este un interval în care se poate considera că este cuprinsă o mare parte a distribuţiei valorilor ce, în mod rezonabil pot fi atribuite lui* Y. Înmulţirea lui $u_c(y)$ cu constanta k nu oferă o informaţie nouă, ci prezintă aceeaşi informaţie diponibilă, dar sub o altă formă.

De fapt, incertitudinea standard compusă a măsurandului, $u_c(y)$, obţinută prin compunerea incertitudinilor componente $u(x_i)$ (conform relaţiilor 3.8 sau 3.15), poate fi interpretată ca intervalul cu semilăţimea egală cu abatera standard experimentală a lui Y în care se află 68, 27% (nivel de încredere) din valorile acestuia (bazat pe faptul că prin compunere/(convoluţie) distribuţia rezultată pentru Y tinde către o distribuţie normală). Incertitudinea extinsă U măreşte intervalul $u_c(y)$ de k ori, care, în fond, corespunde unei alte probabilitaţi (alt nivel de încredere); în general, această extindere se face la dublu sau triplul abaterii standard experimentale, ceea ce corespunde pentru alegere lui $k = 2$ sau 3.

• În practică, (considerând că distribuţia de probabilitate caracterizată prin y şi $u_c(y)$ este aproximativ normală şi numărul de grade de libertate, ν_{ef}, ale lui $u_c(y)$ este semnificativ de mare) recomandarea în determinarea incertitudinii extinse este:

- în general, se alege $k = 2$, care realizeză un interval de încredere $\pm 2u_c(y)$ în jurul valorii y a măsurandului Y, ceea ce corespunde unui nivel de încredere (probabilitate) de aproximativ 95%, sau pentru aplicaţii mai riguroase
- se alege $k = 3$, care realizează un interval de $\pm 3u_c(y)$ în jurul valorii y a măsurandului Y, ceea ce corespunde unui nivel de încredere de aproximativ 99%.

Pentru alte valori uzuale ale nivelului de încredere valoarea coeficientului de extindere k se poate găsi in TABELUL 3.1; iar pentru o valoare oricare a nivelului de încredere, coeficientul k, cu care se multiplică $u_c(y)$, se poate calcula conform modului prezentat în secţiunea 1.2.2 (problema inversă).

• Recomandările anterioare pentru alegerea coeficientului de extindere k s-au făcut pe baza evaluării unei distribuţii de probabilitate aproximativ normală a măsurandului Y cu o distribuţie normală (justificată de teorema limitei centrale). Dar, o valoare mai exactă pentru coeficientul de extindere k se obţine dintr-o distribuţie de tip t (**distribuţia Student**, Figura 2.3) ale cărei valori sunt date în TABELUL 3.4, din care alegerea lui k se face atât în funcţie de nivelul de încredere p cât şi în funcţie de numărul efectiv de grade de libertate, ν_{ef}. **Numărul efectiv de grade de libertate** pentru măsurandul Y se calculează cu relaţia

$$\nu_{ef} = \frac{u_c^4(y)}{\sum_{i=1}^{N} \frac{u_i^4(y)}{\nu_i}} \tag{3.20}$$

în care ν_i este numărul de grade de libertate, calculat după relaţia (3.16), pentru variabila x_i (numarul de grade de libertate pentru variabilele care au o distribuţie de probabilitate de tip dreptunghiular este $\nu_i \to \infty$, deci $1/\nu_i = 0$).

Exemplul 3.8 Se consideră pentru măsurandul Y expresia: $Y = f(X_1, X_2, X_3) = X_1 \cdot X_2 \cdot X_3$ ale cărei mărimi de intrare au o distribuţie normală. Pe baza valorilor mărimilor de intrare, x_1, x_2, x_3, măsurate respectiv de $n_1 = 10$, $n_2 = 5$ şi $n_3 = 15$ ori, s-au calculat următoarele incertitudini standard relative: $u(x_1)/x_1 = 0,25\%$, $u(x_2)/x_2 = 0,57\%$ şi $u(x_3)/x_3 = 0,82\%$. Să se determine coeficientul de extindere k pentru un nivel de încredere 95%.

Soluţie: Incertitudinea compusa relativă se calculeză conform relaţiei (3.10-b)

$$\frac{u_c(y)}{y} = \sqrt{\left(\frac{u(x_1)}{x_1}\right)^2 + \left(\frac{u(x_2)}{x_2}\right)^2 + \left(\frac{u(x_3)}{x_3}\right)^2} \cdot 100 = 1,03\%$$

Numarul efectiv de grade de libertate se calculează cu relaţia (3.20):

$$\nu_{ef} = \frac{\left(\frac{u_c(y)}{y}\right)^4}{\left(\frac{u(x_1)}{x_1}\right)^4 \cdot \frac{1}{\nu_1} + \left(\frac{u(x_2)}{x_2}\right)^4 \cdot \frac{1}{\nu_2} + \left(\frac{u(x_3)}{x_3}\right)^4 \cdot \frac{1}{\nu_3}} = \frac{1,03^4}{\frac{0,25^4}{10-1} + \frac{0,57^4}{5-1} + \frac{0,82^4}{15-1}} = 19,0$$

- Determinarea coeficientului de extindere k

Din TABELUL 3.4, pentru $\nu = 19$ şi $p = 95\%$ rezultă $k = 2,09$, deci incertitudinea extinsă pentru acest nivel de încredere este: $U_{95} = 2,09 \cdot u_c(y) = 2.09 \cdot (1,03\% y) = 2,2y\% = 0,022y$.

Valoare estimată pentru y (determinat cu relaţia $X_1 \cdot X_2 \cdot X_3$) se raportează sub forma

$$Y = y \pm U_{95} = y(1 \pm 0,022) \quad \text{sau} \quad 0,978y \leq Y \leq 1,022y$$

iar nivelul de încredere asociat acestui interval este aproximativ 95%.

- Distribuţia Student pentru $\nu \to \infty$ devine o distribuţie normală, deci ultima linie din Tabelul 3.4 corespunde cu valorile din Tabelul 3.1.

Tabelul 3.4 Valorile lui $tp(\nu)$ din distribuţia t (distribuţia Student) pentru ν grade de libertate, care defineşte un interval de la $-tp(\nu)$ până la $+tp(\nu)$ ce cuprinde fracţiunea p a distribuţiei

Numărul de grade de libertate ν	Fracţiunea p%					
	68,27	90	95	95,45	99	99,73
1	1,84	6,31	12,71	13,97	63,66	235,80
2.	1,32	62,92	4,30	4,53	9,92	19,21
3	1,20	2,35	3,18	3,31	5,84	9,22
4	1,14	2,13	2,78	2,87	4,60	6,62
5	1,11	2,02	2,57	2,65	4,03	5,51
6	1,09	1,94	2,45	2,52	3,71	4,90
7	1,08	1,89	2,36	2,43	3,50	4,53
8	1,07	1,86	2,31	2,37	3,36	4,28
9	1,06	1,83	2,26	2,32	3,25	4,09
10	1,05	1,81	2,23	2,28	3,17	3,96
11	1,05	1,80	2,20	2,25	3,11	3,85
12	1,04	1,78	2,18	2,23	3,05	3,76
13	1,04	1,77	2,16	2,21	3,01	3,69
14	1,04	1,76	2,14	2,20	2,98	3,64
15	1,03	1,75	2,13	2,18	2,95	3,59
16	1,03	1,75	2,12	2,17	2,92	3,54
17	1,03	1,74	2,11	2,16	2,90	3,51
18	1,03	1,73	2,10	2,15	2,88	3,48
19	1,03	1,73	2,09	2,14	2,86	3,45
20	1,03	1,72	2,09	2,13	2,85	3,42
25	1,02	1,71	2,06	2,11	2,79	3,33
30	1,02	1,70	2,04	2,09	2,75	3,27
35	1,01	1,70	2,03	2,07	2,72	3,23
40	1,01	1,68	2,02	2,06	2,70	3,20
45	1,01	1,68	2,01	2,06	2,69	3,18
50	1,01	1,68	2,01	2,05	2,68	3,16
100	1,005	1,660	1,984	2,025	2,626	3,077
∞	1,000	1,645	1,960	2,000	2,576	3,000

3.2.6 Raportarea incertitudinii

• Informaţia necesară în prezentarea rezultatului unei măsurări depinde de destinaţia utilizării rezultatului. Este recomandabil a se conforma următoarelor indicaţii:

- să se prezinte suficientă informaţii astfel incât să fie posibil, ulterior, o reevaluare a măsurării dacă noi date sau informaţii devin disponibile;
- este preferabil să fie prezentată mai multă informaţie decât prea puţină.

• Dispunând de rezultatul măsurarii y şi incertitudinea standard compusă $u_c(y)$, prezentarea poate fi făcută sub una din urmatoarele trei forme (textul dintre paranteze poate fi omis); pentru exemplificare se consideră raportarea unui etalon de masa m_e, cu valoarea nominală de 100 g:

1. "me = 100,021 47 g, cu (incertitudinea standard compusă) $u_c = 0,35$ mg".
2. "me = 100,021 47(35) g, unde numărul din paranteze este valoarea numerică (a incertitudinii standard compusă) u_c, exprimată în cifre de acelaşi rang cu ultimele cifre ale rezultatului".
3. "me = 100,021 47(0,000 35) g, unde numărul din paranteze este valoarea (incertitudinii standard compuse) u_c exprimată în aceleaşi unităţi ca şi rezultatul furnizat".

Când se raportează rezultatul unei măsurări şi măsura incetitudinii este incertitudinea extinsă $U = k \cdot u_c(y)$, conform relaţiei (3.19) forma de prezentarea este următoare:

4. "me = $(100,02147 \pm 0,00070)$ g, unde numărul care urmează dupa semnul $\pm$ este valoarea numerică a (incertitudinii extinse) $U = k \cdot u_c(y)$, determinată pe baza incertitudinii standard compuse $u_c(y) = 0,35$ mg şi a factorului de extindere $k = 2$ şi defineşte un interval estimat a avea un nivel de încredere de 95% ".

Dacă factorul de încredere s-a determinat pe baza distribuţiei Student, TABELUL 3.4: $[(m_e = 100,02147 \pm 0,0079)$ g$]$, atunci ultima propoziţie din aserţiunea anterioară va fi ".... şi a factorului de extindere $k = 2,26$ bazat pe distribuţia t, pentru $\nu = 9$ grade de libertate şi defineşte un interval estimat a avea un nivel de încredere de 95% ".

Exemplul 3.9 Rezultatul unei analize se poate raporta în unul din următoarele două moduri (sau ambele):

1. **În valori absolute** (pentru glicemie):

$$y = 6,44 \text{ mmol/L} \pm 0,64 \text{ mmol/L} \qquad \text{pentru } k = 2$$

sau

$$y = 11,2 \text{ mmol/L} \pm 1,3 \text{ mmol/L} \qquad \text{pentru } k = 2$$

se observă că numărul cifrelor semnificative zecimale ale incertitudinii extinse se alege egal cu numărul de cifre semnificative zecimale ale valorii măsurate.

2. **În valori relative** (pentru hemoglobină glicozilată):
Pentru analiza de hemoglobină glicozilată la care s-a obţinut un rezultat de 5% şi căruia i se asociază o incertitudine extinsă (în valoare relativă) de 6%, din procentajul de 5%, $\left(\frac{(5\%)}{100} \cdot 6 = 0,3\%\right)$ rezultatul se raportează în felul următor:

$$y = (5 \pm 0,3)\% \quad [\text{mmol/L}] \qquad (\text{pentru k=2})$$

respectiv, pentru un rezultat al analizei de 7% căruia i se asociază o incetitudine extinsă de 6%, $\left(\frac{(7\%)}{100} \cdot 6 = 0,4\%\right)$ raportarea rezultatului este:

$$y = (7 \pm 0,4)\% \quad [\text{mmol/L}] \qquad (\text{pentru k=2})$$

Pentru că valoarea incertitudinii estimate depinde de nivelurile de concentraţie, laboratorul poate raporta o singură valoare pentru incertitudine, obţinută prin interpolarea valorilor de pe diferite domenii/niveluiri sau se raportează fiecare domeniu cu incertitudinea estimată respectivă. Incertitudinea se reevaluează de fiecare dată când apare o schimbare semnificativă în procesul de măsurare (automatul, reactivi etc). Valoarea incertitudinii estimate, pentru un proces de măsurare, se asociază tutuor măsurărilor efectuate cu acel proces până la o nouă evaluare a valorii incertitudinii!

- Raportul detaliat care descrie modul în care a fost obţinut rezultatul unei măsurari şi incertitudinea asociată acestuia, trebuie să ţintă cont de următoarele recomandări:

1. Să se prezinte valoarea fiecărei estimaţii de intrare x_i şi a incertitudinii standard $u(x_i)$, împreună cu o descriere a modului în care au fost obţinute acestea.

2. Să se prezinte covarianţele estimate sau coeficienţii de corelaţie estimaţi (preferabil ambii) asociaţi cu toate estimaţiile de intrare care sunt corelate, precum şi metodele utilizate pentru obţinerea acestora.

3. Să se prezinte numărul de grade de libertate pentru incertitudinea standard a fiecărei estimaţii de intrare şi modul în care au fost obţinute acestea.

4. Să se prezinte relaţia funcţională $Y = f(X_1, X_2, \ldots, X_N)$ şi, atunci când se consideră util, derivatele parţiale sau coeficienţii de sensibilitate $\frac{\partial f}{\partial X_i}$.

Cu cât se urcă în lanţul ierarhic al măsurărilor, sunt necesare din ce în ce mai multe detalii despre modul în care s-au obţinut rezultatul măsurării şi incertitudinea acesteia. La niveluri inferioare ale lanţului ierarhic al măsurărilor (măsurări de rutină), dacă mijloacele de măsurare utilizate satisfac cerinţele prescripţiilor sau ale documentelor normative existente, atunci incertitudinile indicaţiilor lor pot fi deduse din aceste specificaţii sau documente normative.

3.2.7 Sumar al procedurii de evaluare şi exprimare a incertitudinii

I. Definirea măsurandului.

1. Definirea relaţiei (modelului) matematice a măsurandului Y ca funcţie de toate mărimile de intrare X_i, de care depinde, sub forma: $Y = f(X_1, X_2, \ldots, X_N)$, (relaţia (3.2)).

II. Identificarea surselor de incertitudine.

2. Identificarea în modelul matematic al lui Y, pentru fiecare variabilă de intrare X_i, tipul de incertitudine (tip A sau tip B) cu care contribuie în calculul incertitudinii compuse; în plus, funcţia f se completează cu toate corecţiile şi factorii de corecţie care pot contribui cu o componentă semnificativă în calculul incertitudinii asociate rezultatului măsurării.

3. Pentru mărimile de intrare X_i, care au o distribuţie de probabilitate bazată pe o distribuţie de frecvenţă, se realizează un şir $x_{i,k}$ de observaţii (se determină media aritmetică experimentală $\overline{x_i}$, relaţia (2.1)). Pentru celelate mărimi de intrare din modelul matematic al lui Y se consideră incertitudini ca provenind de la surse externe (informaţie apriori), cum sunt: mărimile asociate etaloanelor, materialelor de referinţă certificate sau a valorilor de referinţă preluate din literatura de specialitate.

III. Cuantificarea componentelor de incertitudine

4. Evaluarea incertitudinii standard $u(x_i)$ a fiecărei estimaţii de intrare x_i. Pentru o estimaţie de intrare obţinută printr-un şir de observaţii şi o analiză statistică, de la punctul 3, incertitudinea standard se calculează conform relaţiilor din secţiunea 3.2.2 (evaluare de tip A a incertitudinii standard). Iar pentru celelate variabile sau coeficienţi de corecţie

din modelul matematic al lui Y, folosind o informaţie apriori despre distribuţia de probabilitate, incertitudine standard $u(x_i)$ se calculează conform relaţiilor din secţiunea 3.2.3 (evaluare de tip B a incertitudinii standard)

5. Evaluarea covarianţelor asociate cu toate esimaţiile de intrare care sunt corelate (secţiunea 3.2.4).

6. Calculul rezultatului măsurării, adică a estimaţiei y a măsurandului Y, pe baza relaţiei funcţionale f, folosind pentru mărimile de intrare X_i estimaţiile x_i (mediile aritmetice experimentale) obţinute la punctul 3.

IV. Calculul incertitudinii standard compusă

7. Determinarea incertitudinii standard compusă $u_c(y)$ a rezultatului măsurării y pe baza incertitudinilor standard şi a covarianţelor asociate cu estimaţiile de intrare, conform relaţiilor din secţiunea 3.2.4

8. Pentru cazurile când este necesar ca rezultatul estimării incertitudinii să furnizeze un interval de la $y - U$ până la $y + U$, în care se poate considera că este cuprinsă o mare parte a distribuţiei valorilor, ce în mod rezonabil, pot fi atribuite măsurandului Y, atunci se calculează incertitudinea extinsă U (secţiunea 3.2.5). Incertitudinea extinsă U se obţine din incertitudinea standard compusă $u_c(y)$ înmulţită cu un factor de extindere k, aflat de obicei în intervalul de la 2 la 3, $U = k \cdot u_c(y)$. Pentru un calcul mai exact al coeficientului de extindere k, care să genereze un interval cu un nivel de încredere apropiat de o valoare specificată, se calculează numarul efectiv de grade de libertate, ν_{ef}, relaţia(3.20), şi pe baza distribuţiei t (distribuţia Student), din TABELUL 3.4, se citeşte factorul de extindere $t \quad (= k)$

V. Raportarea rezultatului

9. Raportarea rezultatului estimării măsurarii y împreună cu incertitudinea standard compusă $u_c(y)$ sau cu incertitudinea extinsă U se face conform modalităţilor expuse în secţiunea 3.2.6. Este foarte indicat să se descrie modul cum au fost obţinute valorile pentru y, $u_c(y)$ sau U.

Exemple de estimare de incertitudine prin metoda analitică sunt expuse în Anexa 1 şi Anexa 2.

3.3 ESTIMAREA INCERTITUDINII PRIN METODE NEANALITICE

Detalierile şi dificultăţile întâlnite în calculul incertitudinii prin metoda analitică, practic, nu pot fi rezolvate pentru estimarea incertitudinii de măsurare cu aplicare la un laborator medical pentru analize de rutină. Pentru un astfel de laborator informaţia necesară estimării incertitudinii de măsurare trebuie extrasă, fără costuri şi consum de timp ridicate, adică din acele activităţi deja efectuate în laborator cum sunt: baza de date rezultată în urma validării metodei sau baza de date formată prin controlul intern de calitate (QC), rezultatele obţinute în urma intercomparărilor. Informaţia extrasă este necesară, în fond, conform relaţiei (3.1) pentru estimarea incertitudinilor asociate celor două efecte: cel aleatoriu (precizia) şi cel sistematic (exactitatea), în acesta se va încadra şi incertitudinea de etalonare. Metodele neanalitice următoare va calcula, prin diferite variante, incertitudinea compusă numai prin cele două componente corespunzătoare: efectelor sistematice şi celui aleatoriu.

3.3.1 Estimarea incertitudinii de măsurare din caracteristicile metodei

Prin această metodă se estimează incertitudinea de măsurare folosind doar date deja determinate în cadrul laboratorului (validarea metodei sau controlul intern de calitate)

A. Componenta aleatorie. Componenta aleatorie a erorii, ϵ_a, reflectă distribuţia măsurărilor în jurul valorii medii $\overline{x}$, adică precizia procesului de măsurare. Ca măsură pentru precizie se consideră abatera standard experimentală, relaţia (2.2), abatera standard relativă, relaţia (2.3), sau coeficientul de variaţie, relaţia (2.4). Uzual, pentru precizie, se cuantifică incertitudinea standard, u_p, prin valoarea abaterii standard experimentale corespunzătoare preciziei intermediare $s(x)$ (reproductibilitatea internă), adică

$$u_p = s(x) \tag{3.21}$$

Pentru metodele de rutină se recomandă ca reproductibiliatea internă să se calculeze pentru date din baza de date colectate, prin controlul intern de calitate, pe un interval de minimum şase luni. Pentru metode noi sau metode ce nu sunt frecvent utilzate se recomandă un minim 30 de măsurări pe o durata în care să se cuprindă cel puţin două calibrări şi schimbări de loturi de reactivi.

B. Componenta sistematică. Eroare sistematică se reflectă în mai multe componente de incertitudine. (care se reduce la o singură componentă prin metoda 3.3.2)

1. *Incertitudinea de etalonare.* Daca există certificat de etalonare pentru analizor atunci se consideră incertitudinea de etalonare specificată U_{et}. Această incertitudine, în general este exprimată ca o incertitudine extinsă cu nivel de încredere 95% ($k = 2$); deci se obţine abaterea standard (incertitudinea standard) de etalonare prin divizare la coeficientul de extindere k

$$u_{et} = U_{et}/k$$

2. *Deplasarea/Bias-ul.* Valoarea exactităţii, determinată prin controlul de calitate sub forma bias-ului, trebuie considerată în calculul incertitudinii, iar pentru aceasta se disting două cazuri:

   a) Valoarea raportată a mărimii măsurate nu este corectată cu valoarea deplasării D, iar această deplasare este introdusă în incertitudinea asociată mărimii măsurate x. Deplasarea este considerată ca o distribuţie dreptunghiulară (tip B) iar incertitudinea standard introdusă se calculează cu relaţia (3.6)

$$u_D = D/\sqrt{3}$$

   b) Mărimea măsurată x este corectată cu $-D$ (corecţia), deci valoarea raportată a mărimii măsurate şi corectate, x_c, este egală cu $x_c = x+(-D)$, (sau dacă deplasarea are o valoare insignifiantă ($-D = 0$) raportarea este $x + (0)$). Dar şi în acest caz, pentru inexactitatea inerentă produsă prin aplicarea corecţiei (care nu este perfectă), în estimarea incertitudinii (care se va asocia valorii mărimii corectate) se introduce (se estimează) un factor de incertitudine k (în Fig. 3.4-a este prin $s_{D(EE)}$)

$$u_D = k$$

3. *Incertitudinea introdusă de materialul de referinţă* u_r (utilizat pentru determinarea exactităţii). Se utilizează incertitudinea pentru materialul de referinţă dacă aceasta se specifică în certificatul său. Dacă pentru materialul de referinţă se specifică o distribuţie rectangulară de probabilitate pe intervalul $\Delta(= 2a)$ egal cu diferenţa între limita superioară şi cea inferioară, $\Delta = (V_{Rmax} - V_{Rmin})$, atunci incertitudinea, de tip B, se calculează cu relaţia (3.6) în felul următor

$$u_r = \Delta/\sqrt{12} = 2a/(2\sqrt{3}) = a/\sqrt{3}$$

În cazul când pentru determinarea exactităţii se utilizează ser de control pot apărea două situaţii de calcul pentru componenta de incertitudine u_r.

Prima, când în prospectul serului de control se specifică abaterea standard, SD, atunci $u_r = SD$.

A doua situaţie apare când în prospectul serului de control se specifică, de cele mai multe ori, doar două limite (V_{min}, V_{max}), care sunt utile pentru

controlul corectitudinii funcţionării automatului. Utilizarea acestui interval ($\Delta = V_{max} - V_{min}$, assayed value range) şi pentru calculul abaterii standard, după relaţia (3.6), este corectă numai dacă serul de control are o distrbuţie rectangulară în acest interval; calculată incertitudinea u_r, după relaţia (3.6), în general, produce valori exagerat de mari.
Trebuie studiat prospectul pentru a se identifica dacă fabricantul a fixat limitele de control (intervalul de control Δ) în funcţie de abaterea standard SD a serului de control, atunci dacă există o astfel de relaţie între Δ şi SD se poate calcula valoarea lui $SD(= u_r)$. De exemplu, pentru serurile de control PerciControl U1-176103 şi PerciControl U1-176100 există relaţia $\Delta = 6 \cdot SD$ (limitele de control fixate la $\pm 3\sigma$), deci $u_r = \sigma = \Delta/6$.

Dacă datele pentru evaluarea componentei de incertitudine, u_r, ale materialului folosit ca material de referinţă nu prezintă încredere, atunci se recomamdă ca această componentă, calculată cu astfel de date, să nu fie luată în considerare pentru estimarea incertitudinii compuse (şi să se specifice aceasta). Totuşi, orientativ, o contribuţie a materialului de referinţă < 33%, în componenţa lui u_c, se poate considera ca fiind o valoare rezonabilă [23].

4. *Diverşi factori de incertitudine.* Alţi factori care pot intra în estimarea valorii incertitudinii de măsurare pot fi: neliniaritatea curbei de calibrare în domeniul de lucru (u_l), interferenţe/contaminare (u_i), efecte de matrice (u_m) etc. Incertitudinea u_f asociată acestor factori, se consideră numai pentru anumite probe sau/şi sub anumite condiţii specifice, se calculează cu relaţia

$$u_f^2 = u_l^2 + u_i^2 + u_m^2 + \dots$$

De cele mai multe ori efectul acestor factori se neglijează, deci $u_f = 0$.

Incertitudinea compusă u_c se calculează cu relaţia (3.10) şi se obţine

$$u_c = \sqrt{u_p^2 + u_{et}^2 + u_D^2 + u_r^2 + u_f^2} \qquad (3.22)$$

În general, componentele cu ponderea cea mai mare, în estimarea incertitudinii de măsurare, sunt u_{et} şi u_r. Incertitudinea extinsă U, pentru nivelul de încredere 95% ($k = 2$) este $U = 2 \cdot u_c$, iar rezultatul R se exprimă

$$R = x \pm U \quad \text{[unităţi]} \quad \text{(pentru k=2)}$$

Exemplul 3.10 Pentru estimarea incertitudinii de măsurare a concentraţiei calciului c_{Ca}, pe un analizor OLIMPUS, se cunosc următoarele date:

- reproductibilitatea internă, $s(x) = 0,212$ mg/dL (din baza de date pentru controlul intern de calitate);

- deplasarea, $D = 0,2$ mg/dL (din baza de date pentru controlul intern de calitate);
- concentraţia medie măsurată $c_{Ca} = 9,45$ mg/dL (din baza de date pentru controlul intern de calitate);
- pentru serul de control utilizat ca material de referinţă, din certificat, se citesc: valoarea ţintă 9,65 mg/dL, $SD = 0,15$ mg/dL, deci $u_r = 0,15$ mg/dL
- în certificatul de etalonare se specifică incertitudine extinsă de etalonare $U_{et} = 0,5$ mg/dL (pentru $k = 2$).

Utilizând relaţia (3.22) se calculează incertitudinea compusă

$$u_c(c_{Ca}) = \sqrt{0,212^2 + \left(\frac{0,5}{2}\right)^2 + \left(\frac{0,2}{\sqrt{3}}\right)^2 + (0,15)^2} = 0,3785 \text{ mg/dL}$$

iar incertitudinea extinsă $U_{C_a} = 2 \cdot 0,3785 = 0,757$. Rezultatul se raportează în valori:

absolute $c_{Ca} = 9,45 \pm 0,76$ [mg/dL] (pentru $k = 2$)

relative $c_{Ca} = 9,45 \pm 8,04\%$ [mg/dL] (pentru $k = 2$)

Bugetul de incertitudine

Simbol	Componentă	Unitate de măsură	Tip incert.	Incertitudinea standard	Contribuţia componentei
S_p	Precizia	[mg/dL]	Tip A	0,212	31,35%
D	Exactitatea	[mg/dL]	Tip B	$0,2/\sqrt{3}$	9,32%
MR	Materialul de referinţă	[mg/dL]	Tip B	0,15	15,73%
E_t	Etalonarea	[mg/dL]	Tip B	0,5/2	43,49%
$u_c(c_{Ca})$	Concentraţie Calciu	[mg/dL]		0,378	

3.3.2 Estimarea incertitudinii de măsurare din compararea interlaboratoare

În biologia medicală, cu rare excepţii, eşantioane racordate/trasabile metrologic la etaloanele internaţionale (materiale de referinţă certificate, CRM) nu există, deci, în sens strict, nu se poate vorbi de valoare adevărată, în consecinţă, la fel, şi pentru determinarea exactităţii. Utilizarea serului de control (pentru sistemele închise) este doar un "paliativ". Inexistenţa practică, încă, a unor valori de referinţă certificate determină ca pentru evaluarea exactităţii (deplasării) să se apeleze la comparări interlaboratoare. Pentru evaluările externe interlaboratoare se utilizează materiale de referinţă - a căror comutativitate a fost verificată şi probată - şi pentru care valoarea ţintă reţinută este media rezultatelor cumulate de ansamblul de utilizatori ai metodei pentru lotul în curs.

Având în vedere aceste dificultăţi, cu privire la fixarea valorii adevărate, prezenta metodă pentru determinarea incertitudinii va aborda estimarea incertiudinii pentru componenta datorată repetabilităţii (preciziei/componenta aleatorie), la fel ca şi la metoda anterioară (secţiunea 3.3.1), adică din datele cumulate în procesul ce control intern de calitate (QC); dar pentru estimarea incertitudinii datorate componentei sistematice (exactitatea/deplasarea) se va utiliza datele obţinute într-un proces de evaluare externă (EE) interlaboratoare (toate metodele). Modul de abordare prin această metodă este reprezentat în Figura 3.3.

Pentru un măsurand a cărui valoare citită este x, valoarea estimată/corecta-

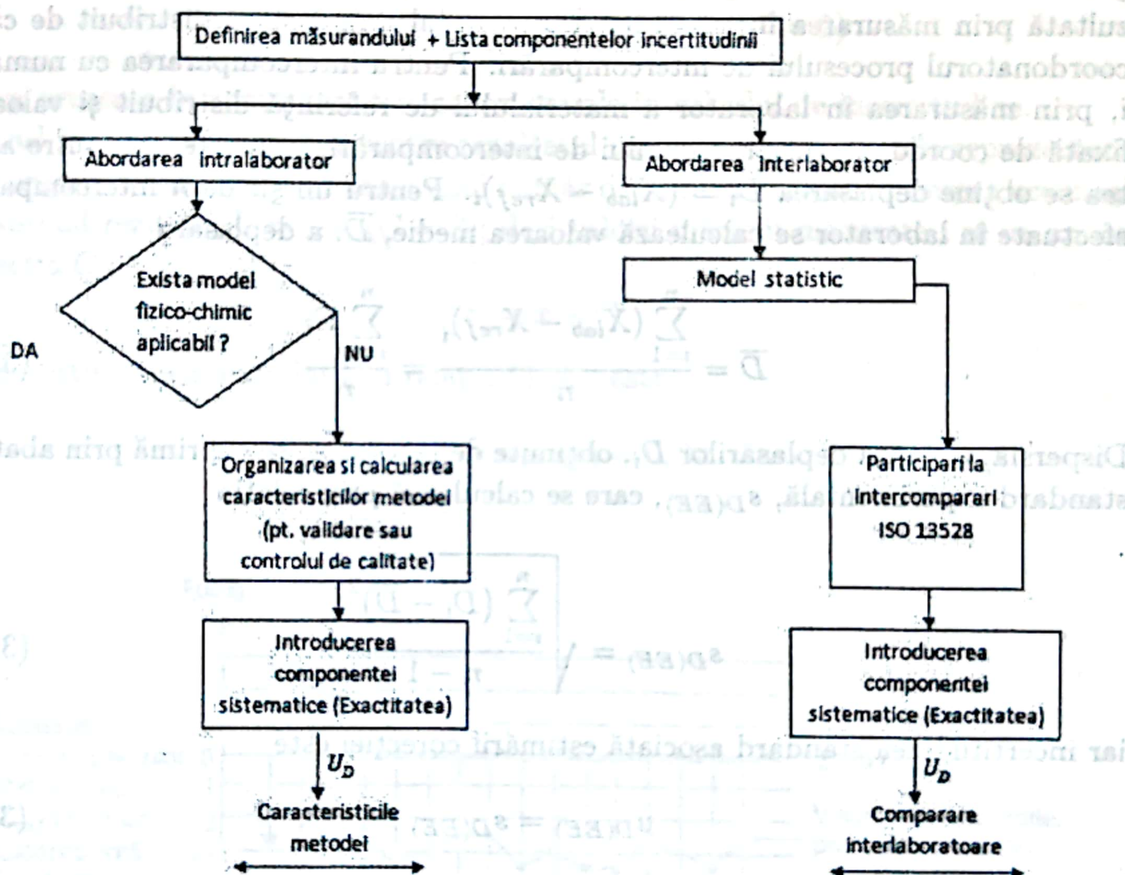


Figura 3.3 **Calculul incertitudinii de măsurare pe baza datelor obţinute prin controlul de calitate (intern) şi din comparări interlaboratoare**

tă, x_c, poate fi exprimată prin relaţia

$$x_c = x + C \tag{3.23}$$

în care C - este valoarea corecţiei (datorată deplasării/bias-ului, $C = -D$).

Incertitudinea compusă u_c, asociată valorii estimate x_c se obţine cu relaţia

$$u_c = \sqrt{u_p^2 + u_{D(EE)}^2} \tag{3.24}$$

în care

- u_p - este incertitudinea asociată preciziei (componenenta aleatorie) de măsurare şi se determină pe baza reproductibilităţii interne (din baza de date obţinută prin controlul intern de calitate) cu relaţia 3.21
- $u_{D(EE)}$ - este incertitudinea asociată estimării valorii corecţiei C şi se determină pe baza procesului de intercomparări

Valoarea corecţiei, $C = -\overline{D}$, se determină pe baza datelor obţinute în procesul de intercomparare în felul următor. Se consideră: X_{ref} - fiind valoarea ţintă generată de coordonatorul procesului de intercomparaţii; X_{lab} - fiind valoarea rezultată prin măsurarea în laborator a materialul de referinţă distribuit de către coordonatorul procesului de intercomparări. Pentru intercompararea cu numărul i, prin măsurarea în laborator a materialului de referinţă distribuit şi valoarea fixată de coordonatorul procesulului de intercomparări, prin diferenţa între acestea se obţine deplasarea $D_i = (X_{lab} - X_{ref})_i$. Pentru un şir de n intercomparări efectuate în laborator se calculează valoarea medie, $\overline{D}$, a deplasării

$$\overline{D} = \frac{\sum_{i=1}^{n}(X_{lab} - X_{ref})_i}{n} = \frac{\sum_{i=1}^{n} D_i}{n} \tag{3.25}$$

Dispersia/varianţa deplasărilor D_i, obţinute de laborator, se exprimă prin abatera standard experimentală, $s_{D(EE)}$, care se calculează prin relaţia

$$s_{D(EE)} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n}\left(D_i - \overline{D}\right)^2}{n-1}} \tag{3.26}$$

iar incertitudinea standard asociată estimării corecţiei este

$$u_{D(EE)} = s_{D(EE)} \tag{3.27}$$

Rezultă pentru valoarea corectată a măsurandului, relaţia (3.23), şi pentru incertitudinea compusă asociată, relaţia (3.24), următoarele expresii

$$x_c = x + (-\overline{D}) \tag{3.28-a}$$

$$u_c(x) = \sqrt{u_p^2 + s_{D(EE)}^2} \tag{3.28-b}$$

Dacă valoarea măsurată nu este corectată, $C = 0$, atunci deplasare se introduce în valoarea incertitudinii, dar în locul valorii deplasării medii, $\overline{D}$, se va considera valoarea maximă a deplasării $max|D_i|$. Această valoare maximă a deplasării este considerată ca având o distribuţie dreptunghiulară de probabilitate, în consecinţă abatera standard experimentală asociată deplasării se calculează cu relaţia (3.6), iar relaţiile (3.28) se vor scrie:

$$x_c = x \tag{3.29-a}$$

$$u_c(x) = \sqrt{u_p^2 + \left(\frac{max|D_i|}{\sqrt{3}}\right)^2} \tag{3.29-b}$$

Incertitudinea extinsă se calculează cu relaţia (3.19), $U = k \cdot u_c$, iar pentru nivelul de încredere (95%) coeficientul de extensie este $k = 2$; rezultă următoarea formă de raportare pentru mărimea măsurată

$$R = x \pm U \qquad [\text{unităţi}] \qquad (\text{pentru } k = 2)$$

Se va prezenta în continuare trei cazuri uzuale în calculul de incertitudine.

Cazul 1. Se aplică corecţie pentru rezultatul măsurat. Pentru datele reprezentate in Figura 3.4-a, obţinute în urma unui număr de 15 intercomparări asupra aceluiaşi măsurand rezultă: $\overline{D} = -3$, $(C = 3)$; deci valorii mărimii măsurate i se va aplica corecţia C,

$$x_c = x + C$$

iar incertitudinea, calculată cu relaţia (3.26), este

$$s_{D(EE)} = u_{D(EE)} = 0,36.$$

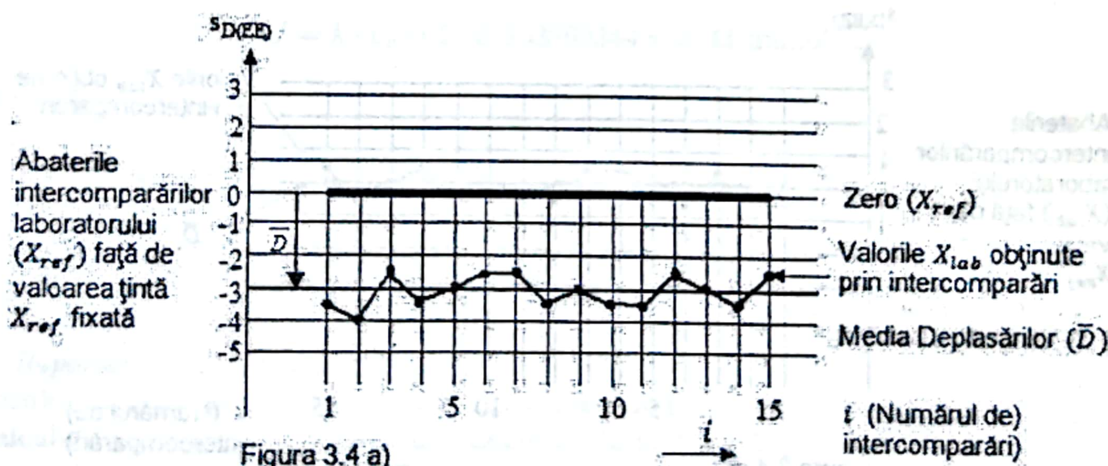


Figura 3.4 a)

Cazul 2. Nu se aplică corecţie pentru rezultatul măsurării, deplasarea se introduce în valoarea incertitudinii, dar nu se introduce valoarea medie a deplasării ci valoarea maximă $max|D_i|$ obţinută pentru deplasare. Pentru datele reprezentate în Figura 3.4-b, obţinute în urma unui număr de 15 intercomparări asupra aceluiaşi măsurand
rezultă: $maxD_i = -3,7$; $(C = 0)$; deci estimarea mărimii măsurate este chiar valoarea măsurată,

$$x_c = x$$

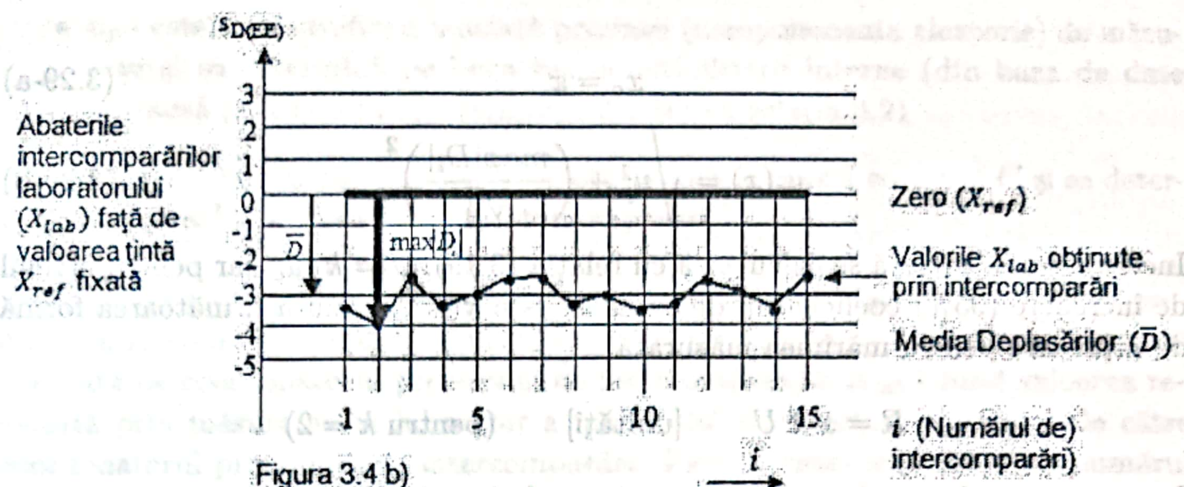


Figura 3.4 b)

iar incertitudinea este

$$s_{D(EE)} = u_{D(EE)} = \frac{max|D_i|}{\sqrt{3}} = \frac{|-3,7|}{\sqrt{3}} = 2,136$$

Cazul 3. Nu se aplică corecţie pentru că valoarea medie, $\overline{D}$, a deplasării, este zero sau are o valoare neglijabilă (deci poate fi considerată zero). Valoarea maximă a deplasării, $max\, D_i$, se introduce în incertitudine. Pentru datele reprezentate în Figura 3.4-c, obţinute în urma unui număr de 15 intercomparări asupra aceluiaşi măsurand

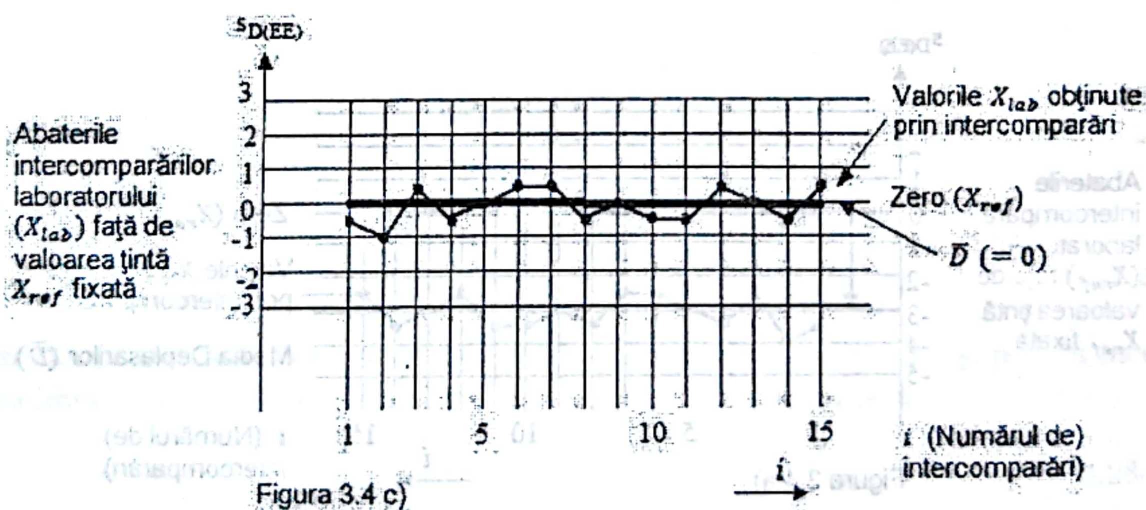


Figura 3.4 c)

rezultă: $\overline{D} \approx 0$; $(C = 0)$; $max\, D_i = -0,7$; deci estimarea mărimii măsurate este

$$x_c = x + 0$$

iar valoarea incertitudinii rezultă

$$s_{D(EE)} = u_{D(EE)} = \frac{max|D_i|}{\sqrt{3}} = \frac{|-0,7|}{\sqrt{3}} = 0,4$$

Exemplul 3.11 Un laborator inclus într-un proces de intercomparări pentru analiză de glucoză, (analiza s-a efectuat prin diferite metode - "toate metodele") a obţinut datele prezentate în tabelul următor

Numărul de intercomparări, $n = 50$	Dimensiunea mmol/L
Valoarea medie a deplasării, $\overline{D}$	0,1242
Abaterea standard a deplasării, $s_{D(EE)}$	0,164826
Valoarea minmă a deplasării, $min\, D_i$	-0,18
Valoarea maximă a deplasării, $max\lvert D_i\rvert$	0,57
Diferenţa, $max\, D_i - min\, D_i$	0,75

iar abaterea standard experimentală pentru reproductibilitatea internă, $s(x)$, obţinută din baza de date colectate din controlul de calitate intern are valoarea 0,12 mmol/L ($= u_p$). Se consideră nivelul măsurat de concentraţie de glucoză de 6 mmol/L. Să se calculeze incertitudinea asociată şi să se raporteze rezultatul măsurării.

1. Raportare cu aplicarea corecţiei
Rezultatul corectat: $x_c = x + C = 6 + (-0,1242) = 5,88$ [mmol/L]
Calculul incertitudinii compuse, u_c, conform relaţiei (3.28-b):

$$u_c = \sqrt{u_p^2 + s_{D(EE)}} = \sqrt{0,12^2 + 0,1648^2} = 0,203860344 \text{ [mmol/L]}$$

Incertitudinea extinsă, pentru $k = 2$:

$$U = k \cdot u_c = 2 \cdot 0,203860344 = 0,41 \text{ [mmol/L]}$$

Rezultatul raportat:

- în valoare absolută $R = 5,88 \pm 0,41$ [mmol/L], (pentru $k = 2$)
- în valoare relativă $\left(\frac{0,41}{5,88} \cdot 100 = 6,7\% \approx 7\%\right)$

$R = 5,88 \pm 7\%$ [mmol/L], (pentru $k = 2$)

2. Raportare fără aplicarea corecţiei
Rezultatul corectat: $x_c = x + C = 6 + 0 = 6$ mmol/L
Calculul incertitudinii compuse, u_c, conform relaţiei (3.29-b):

$$u_c = \sqrt{u_p^2 + \left(\frac{max\,|D_i|^2}{\sqrt{3}}\right)^2} = \sqrt{0,12^2 + \left(\frac{0,57}{\sqrt{3}}\right)^2} = 0,350285597 \text{ [mmol/L]}$$

Incertitudinea extinsă, pentru $k = 2$:

$$U = k \cdot u_c = 2 \cdot 0,350285597 = 0,70 \text{ [mmol/L]}$$

Rezultatul raportat:

- în valoare absolută $R = 6 \pm 0,70$ [mmol/L], (pentru $k = 2$)

- în valoare relativă $\left(\frac{0,7}{6} \cdot 100 = 11,6\% \approx 12\%\right)$

$$R = 6 \pm 12\% \text{ [mmol/L], (pentru } k = 2)$$

Exemplul 3.12 Un laborator inclus într-un proces de intercomparări pentru analiză de glucoză, (analiza s-a efectuat prin aceeaşi metodă - " peer group") a obţinut datele prezentate în tabelul următor,

Numărul de intercomparări, $n = 50$	Dimensiunea mmol/L
Valoarea medie a deplasării, $\overline{D}$	0,2328
Abaterea standard a deplasării, $s_{D(EE)}$	0,146914
Valoarea minmă a deplasării, $min\, D_i$	-0,02
Valoarea maximă a deplasării, $max\|D_i\|$	0,66
Diferenţa, $max\, D_i - min\, D_i$	0,68

iar abaterea standard experimentală pentru reproductibilitatea internă, $s(x)$, obţinută din baza de date colectate din controlul de caliate intern are valoarea 0,12 mmol/L ($= u_p$). Se consideră nivelul măsurat de concentraţie de glucoză de 6mmol/L. Să se calculeze incertitudinea asociată şi să se raporteze rezultatul măsurării

1. Raportare cu aplicarea corecţiei
Rezultatul corectat: $x_c = x + C = 6 + (-0,2328) = 5,77$ [mmol/L]
Calculul incertitudinii compuse, u_c, conform relaţiei (3.28-b):

$$u_c = \sqrt{u_p^2 + s_{D(EE)}} = \sqrt{0,12^2 + 0,146914^2} = 0,189760375 \text{ [mmol/L]}$$

Incertitudinea extinsă, pentru $k = 2$:

$$U = k \cdot u_c = 2 \cdot 0,189760375 = 0,38 \text{ [mmol/L]}$$

Rezultatul raportat:

- în valoare absolută $R = 5,77 \pm 0,38$ [mmol/L], (pentru $k = 2$)
- în valoare relativă $\left(\frac{0,38}{5,77} \cdot 100 = 6,58\% \approx 7\%\right)$

$$R = 5,77 \pm 7\% \text{ [mmol/L], (pentru } k = 2)$$

2. Raportare fără aplicarea corecţiei
Rezultatul corectat: $x_c = x + C = 6 + 0 = 6$ mmol/L
Calculul incertitudinii compuse, u_c, conform relaţiei (3.29-b):

$$u_c = \sqrt{u_p^2 + \left(\frac{max\,|D_i|^2}{\sqrt{3}}\right)^2} = \sqrt{0,12^2 + \left(\frac{0,66}{\sqrt{3}}\right)^2} = 0,399499687 \text{ [mmol/L]}$$

Incertitudinea extinsă, pentru $k = 2$:

$$U = k \cdot u_c = 2 \cdot 0,399499687 = 0,80 \text{ [mmol/L]}$$

Rezultatul raportat:

- în valoare absolută $R = 6 \pm 0,80$ [mmol/L], (pentru $k = 2$)
- în valoare relativă $\left(\frac{0,8}{6} \cdot 100 = 13,3\% \approx 13\%\right)$

$$R = 6 \pm 12\% \text{ [mmol/L], (pentru } k = 2)$$

Pentru comparaţie rezultatele din Exemple 3.12 şi 3.13 sunt prezentate în continuare

Intercomparaţie prin:

	"toate metodele"	**"groupe de pairs (peer-group)/ aceeaşi metodă"**
Raportare cu aplicarea corecţiei		
Absolut:	$5,88 \pm 0,41$ [mmol/L], (pentru $k = 2$)	$5,77 \pm 0,38$ [mmol/L], (pentru $k = 2$)
Relativ:	$5,88 \pm 7\%$ [mmol/L], (pentru $k = 2$)	$5,77 \pm 7\%$ [mmol/L], (pentru $k = 2$)
Raportare fără aplicarea corecţiei		
Absolut:	$6 \pm 0,70$ [mmol/L], (pentru $k = 2$)	$6 \pm 0,80$ [mmol/L], (pentru $k = 2$)
Relativ:	$6 \pm 12\%$ [mmol/L], (pentru $k = 2$)	$6 \pm 13\%$ [mmol/L], (pentru $k = 2$)

3.3.3 Estimarea incertitudinii cu calibrator trasabil

Joint Committee for Trasability in Laboratory Medicine (JCTLM) are ca obiectiv de a stabili o platformă mondială dedicată trasabilităţii în biologia medicală.

De asemenea, European Diagnostic Manufacturers Association (EDMA) a promovat deja [19] ca producătorii de aparatură de analiză de laborator, de fiecare dată când este posibil, să furnizeze/indice utilizatorului pentru etaloanele din trusa de lucru (calibratorii) şi pentru materialele de controlul exactităţii (plasme, seruri, urine etc) la ce etalon de nivel superior sau la ce metodă de referinţă sunt trasabile, precum şi incertitudinea de măsură asociată.

În viitor, existenţa unor calibratori de lucru trasabili va duce la o mult mai simplă estimare a incertitudinii. Pentru un calibrator trasabil se certifică o valoare ce este metrologic racordată(/trasabilă) la o referinţă/etalon, uzual un standard naţional sau internaţional, iar acestei valori a calibratorului îi este asociată o incertitudine (corespunzătoare unui nivel de încredere), u_{cal}, vezi Anexa 5. Prin calibrare, cu calibratorul de lucru trasabil (etalonare!), bias-ul este compensat sau are o valoare insignifiantă încât poate fi negljat, $D = 0$, deci componenta sistematică intervine în incertitudinea compusă numai prin u_{cal}. În aceste condiţii, incertitudinea de măsurare pentru metoda analitica se calculează cu relaţia

$$u_c = \sqrt{u_{cal}^2 + u_{met}^2 + u_f^2} \tag{3.30}$$

Incertitudinea datorată metodei, u_{met}, integrează toate sursele de incertitudine prezente în metoda analitică. Aceste surse determină variabilitatea metodei şi pot

fi cuprinse în precizia procesului de măsurare, în consecinţă pot fi cuantificate prin abaterea standard experimentală pentru precizia intermediară, $s(x)$, deci

$$u_{met} = s(x) \tag{3.31}$$

valoare ce se obţine din baza de date pentru controlul intern de calitate. Componenta u_f ia în considerare diverşi factori de incertitudine, în general se consideră egală cu zero (vezi relaţia 3.22).

Exemplul 3.13 Pe un analizor multiparametric sunt efectuate analize de Colesterol. Calibratorul de lucru, furnizat de producător, care este trasabil la etalonul internaţional NIST 909S, are valoarea certificată de 3,40 mmol/L ± 0,06 mmol/L pentru $k = 2$ (deci $u_{cal} = 0,06/2 = 0,03$). Laboratorul utilizează doua seruri de control pentru care prin controlul de calitate zilnic, pe o perioadă de un an, s-a obţinut valorile medii de 4,2 şi 6,2 mmol/L. Din baza de date, pentru serul de control cu valoarea mai mare, se calculează abaterea standard $s(x) = 0,18$ mmol/L, iar $CV = 2,9\%$. Conform relaţiei (3.30) rezultă incertitudinea compusă

$$u_c = \sqrt{0,03^2 + 0,18^2} = 0,183 \text{ mmol/L}$$

pentru k =2 incertitudinea extinsă este $U = 2 \cdot 0,183 \approx 0,4$mmol/L. Dacă pentru un pacient se măsoară o valoare de 5,82 mmol/L, atunci rezultatul raportat este: $5,8 \pm 0,4$mmol/L.

3.3.4 Utilizarea incertitudinii raportate pentru interpretarea clinică

Din punct de vedere analitic rezultatul unei analize/măsurări de laborator se raportează sub formă absolută $Y = y \pm U$, sau relativă $Y = y \pm (U\%)$, în care $U = k \cdot u_c$, uzual $k = 2$ pentru nivelul de încredere $95,4\%$, cu următoarea interpretare: cea mai bună estimaţie a măsurandului este y dar, valoarea reală se află în intervalul $y - U \leq Y \leq y + U$ cu o probabilitatea de $95,4\%$. Incertitudinea asociată unui rezultat al măsurării nu este, în mod necesar, o indicaţie a faptului că rezultatul măsurării este cu adevărat aproape de valoarea măsurandului, incertitudinea este doar o estimarea a apropierii credibile a rezultatului măsurării de cea mai bună valoare, în concordanţă cu cunoştinţele de care se dispune în acel moment. Rezultatul unei analize (după corectarea cu componenta sistematică, bias-ul) poate fi, fără să se ştie, foarte aproape de valoarea măsurandului (şi poate deci să aibă o eroare de valoare neglijabilă) deşi, poate avea asociată o incertitudine ridicată (din acest punct de vedere incertitudinea de măsurare asociată unui rezultat un trebuie confundată cu eroarea reziduală necunoscută).

Din punct de vedere clinic rezultatul raportat al unei analize medicale poate fi interpretat/comparat în următoarele trei variante:

- cu rezultatele anterioare ale pacientului;

- cu un interval de referinţă;

- cu un prag de decizie clinic,

dar, o interpretare corectă poate fi realizată doar dacă se ia în considerere incertitudinea asociată valorii raportate a măsurandului. În funcţie de sursa datelor trebuie să se ţină cont dacă analiza de comparat se compară cu date obţinute prin aceeaşi metodă în acelaşi laborator sau cu date obţinute în laboratoare diferite.

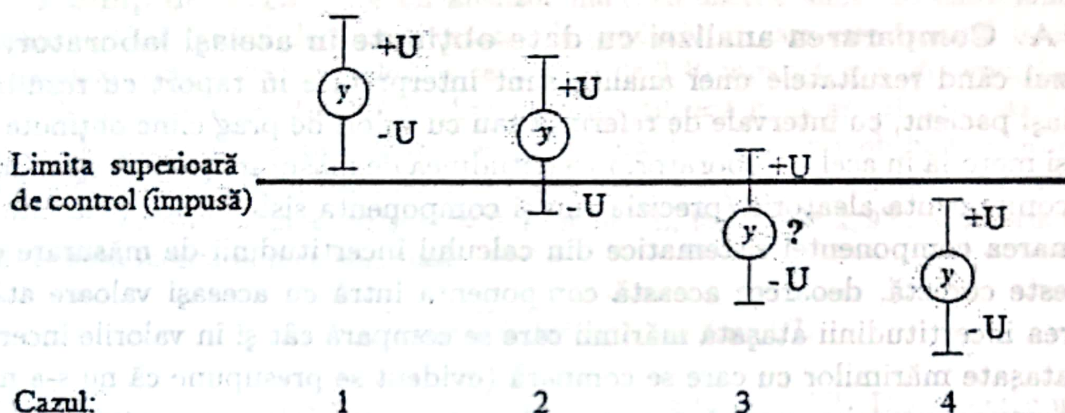
A. Compararea analizei cu date obţinute în acelaşi laborator. În cazul când rezultatele unei analize sunt interpretate în raport cu rezultatele aceluiaşi pacient, cu intervale de referinţă sau cu valori de prag clinc obţinute prin aceeaşi metodă în acelaşi laborator, incertitudinea de măsurare trebuie să cuprindă doar componenta aleatorie (precizia) nu şi componenta sistematică (exactitatea). Eliminarea componentei sistematice din calculul încertitudinii de măsurare compuse este corectă, deoarece această componentă intră cu aceeaşi valoare atât în valoarea incertitudinii ataşată mărimii care se compară cât şi în valorile incertitudinii ataşate mărimilor cu care se compară (evident se presupune că nu s-a modificat componenta sistematică a metodei de măsurare între momentele obţinerii celor două valori). În acest caz, deoarece componenta sistematică este eliminată, rezultă că incertitudinea extinsă, u_c, este egală numai cu $\pm 1,96\,SD$ (sau $\pm 1,96\,CV$); abaterea standard SD fiind obţinută din precizia intermediară (controlul intern de calitate). Practic, valoarea analizei unui pacient se compară:

1. **Cu o valoare anterioară a aceluiaşi pacient.** Luând în considerare numai dispersia procesului de măsurare (dispersia analitică) se poate explica diferenţa între valorile celor două analize. Această diferenţă poate fi datorată fie doar incertitudinii de măsurare sau fie faptului că cele două valori indică chiar măsurări diferite obţinute prin aceeaşi metodă de măsurare. Utilizând relaţia limitei de repetabilitate, relaţia 2.19, se poate evalua natura diferenţei. Dacă cele două valori de analize, ale aceluiaşi pacient, sunt separate cu o diferenţă mai mare decât limita de repetabilitate ($\sqrt{2}\cdot 1,96\cdot SD = 2,77\cdot u_c$) atunci, cu o probabilitate de 95%, cele două analize reflectă o modificare în proba pacientului, deci din punct de vedere analitic sunt diferite. Dar, dacă diferenţa este mai mică decât limta de repetabilitate atunci această diferenţă este datorată doar incertitudinii de măsurare (vezi Exemplul 3.14-1-a).

   Dacă la compararea celor două analize, în afară de variabilitatea analitică, se ia în considerare şi variabilitatea biologică CV_I (inter-individual, vezi pagina 59) atunci limita de repetabilitatea se exprimă sub forma: $2,77\sqrt{CV^2 + CV_I^2}$. Cele două analize ale aceluiaşi pacient exprimă, cu o probablilitate de 95,4%, că starea pacientului s-a modificat numai atunci

când diferenţa valorilor este mai mare decât $2,77\sqrt{CV^2 + CV_I^2}$, vezi Exemplul 3.14-1-b şi 3.15. (Trebuie specificat faptul că, acest calcul se bazează pe presupunerea că variabilitatea intra-individual pentru starea de sănătate este identică cu variabilitatea pentru starea de bolnav, presupunere pentru care în prezent există puţine evidenţe).

2. **Cu o valoare de referinţă.** Cazurile de comparare cu o limită superioară impusă (care este o valoare exactă) sunt prezentate în figura următoare, pentru o conformitate cu o limită inferioară se analizează în mod asemănător.



Deoarece valoarea de referinţă nu are dispersie (este o valoare exactă/fixă), deci expresia distanţei minime dintre valoarea de referinţă şi valoarea de comparat este egală cu $2 \cdot u_c$ (şi nu $\sqrt{2} \cdot 1,96 \cdot u_c$), în consecinţă, dacă valoarea distanţei U, din această figură este mai mică decât $2 \cdot u_c$ atunci rezultatul analizei nu poate fi considerat decât informativ, cazul 3. Cazurile 1 şi 2 sunt neconformităţi clare, iar cazul 4 arată o conformitate realizată.

B. Compararea analizei cu date obţinute în laboratoare diferite. Dacă valorile unei analize sunt interpretate în raport cu rezultate, intervale de referinţă sau prag de decizie clinic determninate în alte laboaratoare atunci în estimarea incertitudinii asociată mărimii de comparat trebuie introdusă şi componenta sistematică. Pentru compararea cu o valoare anterioară a aceluiaşi pacient sau pentru compararea cu o valoare de referinţă modalităţile de analiză sunt similare cu cele descrise anterior la punctul A, dar valoarea incertitudinii cuprinde şi componenta sistematică.

Exemplul 3.14 [11] Analiza PSA pentru un pacient este de 4,2 μg/L; aceeaşi analiză a pacientului, efectuată cu 12 luni în urmă, a fost de 3,8 μg/L.

1. Este PSA-ul crescut?

Soluţie: Se consideră că analizele au fost efectuate în acelaşi laborator, deci în calculul incertitudinii nu s-a introdus bias-ul, evident dacă între timp nu au apărut schimbări ale valorii bias-ului laboratorului (la fiecare calibrare bias-ul este adus la aceeaşi valoare, care la o calibrare perfectă, cu un calibrator ideal, este neglijabilă sau chiar zero). Incertitudinea de măsurare compusă u_{cPSA} a laboratorului pentru PSA la concentraţia de 2,9 μg/L este $u_{cPSA} = 0,15$ μg/L, sau în valori relative $u_{cPSA} = (0,15/2,9) \cdot 100 = 5,0\% (= CV)$.

1-a. *Se consideră numai dispersia datorată metodei de analiză (variabilitatea analitică).*

- Diferenţa Δ între valorile celor două analize este:

$$\Delta = 4,2 - 3,8 = 0,4 \mu\text{g/L sau procentual } \Delta = (0,4/3,8) \cdot 100 = 10,5\%$$

- Limita de repetabilitate a procesului de măsurare pentru un nivel de încredere de 95% este:

$$r = \sqrt{2} \cdot 1,96\, CV = 2,77 \cdot 5\% = 14\%, \text{ sau în valori absolute } r = \sqrt{2} \cdot 1,96 \cdot u_{cPSA} = 0,53\ \mu\text{g/L}$$

Din punct de vedere al dispersiei procesului de măsurare rezultă că analiza recentă ar putea fi, cu un nivel de încredere de 95%, chiar de valoarea $3,8 + 0,53 = 4,33$ μg/L şi tot să nu fie considerată diferită faţă de analiza de 3,8 μg/L, efectuată cu un an în urmă.

- Pentru un nivel de încredere de 99% limita de repetabilitate are valoarea

$$r_{99} = \sqrt{2} \cdot 2,58\, CV = 3,65 \cdot 5\% = 18,3\%, \text{ sau în valori absolute } r = \sqrt{2} \cdot 2,58 \cdot u_{cPSA} = 0,7 \mu\text{g/L}$$

deci analiza recentă ar putea fi 3,8+0,7=4,5 μg/L fără a fi considerată diferită de 3,8 μg/L.

Concluzia dată de laborator în urma comparării se poate exprima *"din punct de vedere al variaţiei de măsurare (variaţia analitică), cu un grad de încredere de 95%, cele două analize nu sunt semnificativ diferite"*.

1-b. *Se consideră atât dispersia de măsurare (variabilitatea analitică) cât şi variaţia biologică (variabilitatea biologică).* Coeficientul de variabilitate biologică are valoarea $CV_I = 14\%$ [10].

- Limita de repetabilitate, pentru nivelul de încredere de 95%, se calculează cu o relaţie în care se introduce şi CV_I pe lângă CV în felul următor:

$$r = \sqrt{2} \cdot 1,96 \cdot \sqrt{\left[(CV)^2 + (CV_I)^2\right]} = 2,77 \cdot \sqrt{[5,0^2 + 14,0^2]} = 2,77 + 14,87 = 41,2\%$$

sau în valori absolute $(3,8 \cdot 41,2)/100 = 1,57$ μg/L.
Din punct de vedere al dispersiei procesului de măsurare şi al variaţiei biologice, la un nivel de încredere de 95% rezultă că analiza recentă ar fi putut avea valoarea de $3,8 + 1,57 = 5,37 \approx 5,4$ μg/L fără a putea fi considerată semnificativ diferita de cea de 3,8 μg/L, efectuată cu un an în urmă.

Concluzia comparării dată de laborator se poate exprima *"din punct de vedere al variației de măsurare și a variației biologice, cu un grad de încredere de 95%, cele două analize nu sunt semnificativ diferite"*.

Exemplul 3.15 Pentru o analiză de fosfatază alcalină, efectuată cu două zile în urmă, a fost o valoare de 95 U/L, iar astăzi aceeași analiză, pentru același pacient, tot în acest laborator, a rezultat o valoare de 108U/L. Sunt cele două analize diferite ?

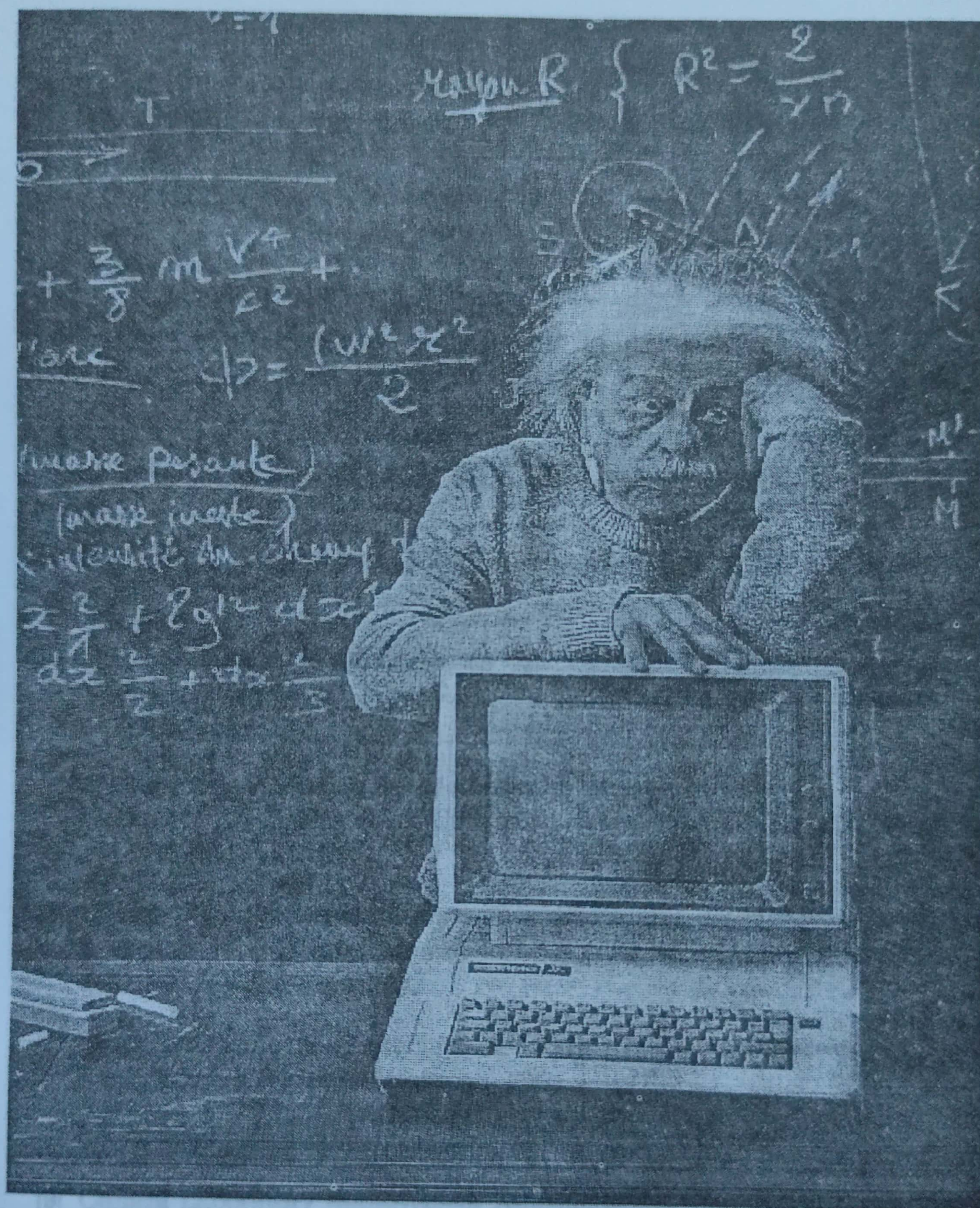
Soluție: Imprecizia de măsurare a laboratorului, rezultată din baza de date a controlului intern de calitate exprimată sub forma coeficientului de variație la valoarea de 87UM/L, este $CV = 1,45\%$. Variabilitatea biologică exprimată prin coeficientul CV_I are valoarea $CV_I = 6,4\%$ [10]. Luând în considerare atât variabilitatea biologică precum și cea analitică rezultă valoarea coeficientului de repetabilitate

$$r = \sqrt{2} \cdot 1,96 \cdot \sqrt{CV^2 + CV_I^2} = 2,77\sqrt{1,45^2 + 6,4^2} = 18,3\%$$

Valoarea maximă pe care o poate avea cea de-a doua analiză (cu o probabilitate de 95%), fără a se considera că cele două analize sunt diferite, este de:

$$95U/L + (95U/L \cdot 18,3\%) = (95 + 17,4)U/L = 112U/L.$$

În concluzie, cele două analize, de 95U/L și de 108U/L, sunt diferite din punct de vedere analitic, dar cu o probabilitate de 95% nu și din punct de vedere biologic.


Rayon R
masse pesante
masse inerte
intensité du champ

Bibliografie

[1] "Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement". - *EURACHEM/ CITAC Guide*, second edition.

[2] GUM ("Guide to the Expression of the Uncerainty in Measurement ENV 13005"), (în limba română SR ENV 13005, se poate procura de la Camerele de Comerţ).

[3] "The Fitness for Purpose of Analitical Methodes". - *EURACHEM/ CITAC Guide.*

[4] "Les Controles de la Qualite Analytique en biologie Medical". - *COFRAC, Document LAB GTA 06.* http://www.cofrac.fr/doc/doc1/1-laboartoares/.

[5] "Guide de la Validation des Methodes en Biologie Medicale". - *COFRAC, Document LAB GTA 06.* http://www.cofrac.fr/doc/doc1/1-laboartoares/.

[6] "Guide d'Evaluation des Incertitudes de Mesures des Analyses en Biologie medicale". - *COFRAC, Document LAB GTA 14.* http://www.cofrac.fr/doc/doc1/1-laboartoares/.

[7] David Iulia Gabriela; Radu Lucian-Gabriel. *Validarea metodelor (Bio) analitice.* Editura Printech, Bucureşti, 2006.

[8] Lyons Mike. *Analytical Chemistry.* Trinity college Dublin, 2005.

[9] Clinical Laboratory Improvement Amendaments. www.cms.hhs.gov/CLIA/.

[10] http://www.westgard.com/biodatabase1.htm.

[11] *"Requirement for the Estimation of Measurement Uncertainty".* Australian Government Dept. Of Health and Ageing, 2007 Edition.

[12] COFRAC. Comite Francais d'Accreditation. www.cofrac.fr.

[13] ILAC. International Laboratory Accreditation Co-operation. www.ilac.org.

[14] RENAR. Asociaţia de Acreditate din România. www.renar.ro.

[15] C. Ricos et al. "Current Database on Biological Variation: Pros, Cons and Progress". pages 491–500, Scandinavian Journal of Clinic Lab. Invest, 1999.

[16] Expression of Uncertainty of Measurement in Clinical Laboratory Medicine (c51). http://www.clsi.org.

[17] A. Vassault et al. "Analyses de biologie medicale: specifications et normes d'acceptabilite a l'usage de la validation de techniques". http://www.jle.com/fr/revues/bio_rech/abc/e-docs/00/00/C4/0C/article.md?type=text.html.

[18] C. Giroud et al. "Recommandations relatives a l'expression de l'incertitude de mesure des resultats quantitatifs en biologie mdicale (Document F)". Ann. Biol. Clin., vol. 65, no.2, mars-avril 2007. http://www.jle.com/fr/revues/bio_rech/abc/e-docs/00/04/2C/31/article.md?type=text.html.

[19] "Estimation of Uncertainty of Measurement in Medical Laboratoies". www.edma-ivd.be.

[20] "Conversion Between SI units". http://www.cja-jca.org/cgi/reprint/29/4/414.pdf.

[21] James O. Westgrad. *"Basic Method Validation - Training in Analitical Quality Management for Healthcare Laboratories"*. Westgard QC, Inc., ISBN 1-886958-19-X, second edition, 2003.

[22] James O. Westgrad. *"Assuring the Right Quality Right - Good Laboratory Practices for Verifying the Attainement of the Intended Quality of the Test"*. Westgard QC, Inc., ISBN 1-886958-24-6, 2007.

[23] "The Selection and Use of Reference Materials". EA-04/14. http://www.european-accrediatation.org/n1/doc/ea-4-14.pdf.

[24] CLSI C24-A3. "Statistical Quality Control for Quantitative Measurement Procedures: Principles and Definitions; Approved Guideline". Third Edition. www.clsi.org/source/orders/free/c24-a3.pdf.

[25] Philippe Marquis. "Le Control de la Qualite au Laboratoire de Biologie Clinique". www.multiqc.com.

PAGINI WEB UTILE

IFCC. International Federation of Clinical Chemistry. www.ifcc.org

FDA. Food and Drug Administration. www.fda.org

NIST. National Institute of Standards and Technology (NIST) www.cstl.nist.gov

AACC. American Association of Clinical Chemistry. www.aacc.org

Clinical Chemistry. www.clinchem.org

Clinical Laboratory News. http://www.aacc.org/AACC/publications/cln

WESTGARD. (Abundante informacion sobre control de calidad y validacion de metodos) www.westgard.com

PAHO. Panamerican Health Organisation www.paho.org

WHO. World Health Organisation. www.who.org

CLSI. Clinical Laboratory Standards Institute. www.clsi.org (nota: este sitio contiene guas de trabajo para el laboratorio clnico de gran utilidad que deben ser adquiridas por medio de un pago)

CAP. College of American Pathologists. www.cap.org (Contiene listas de verificacion para las distintas areas del laboratorio clnico)

CLIA. Clinical Laboratory Improvement Amendaments. http://www.cdc.gov/clia/

EURACHEM. http://www.eurachem.org/

LISTĂ DE DOCUMENTE DIN BIBLIOTECA IAAC, PENTRU LABORATOARELE MEDICALE
(InterAmerican Acreditation Cooperation)
(Author: Silvia Depardo. Organismo Argentino de Acreditacio

ISO 15189-Accreditation

150412200400.pdf ISO15189, the Standard for Accreditation in Laboratory Medicine - 2004
`http://www.ifcc.org/ejifcc/vol15no4/150412200400.htm`

150412200402.pdf ISO 15189:2003 - From Theory Into Practice - 2004.
`http://www.ifcc.org/ejifcc/vol15no4/150412200402.htm`

150412200403.pdf Practical Application of ISO 15189 by accreditation bodies - A Comparison with ISO/IEC 17025 - 2004
`http://www.ifcc.org/ejifcc/vol15no4/150412200403.htm`

150412200404.pdf Pre and Post Examination Aspects - 2004
`http://www.ifcc.org/ejifcc/vol15no4/150412200404.htm`

150412200405.pdf ISO 15190:2003 Medical Laboratories - Requirements for Safety - 2004
`http://www.ifcc.org/ejifcc/vol15no4/150412200405.htm`

150412200406.pdf ISO 15189:2003 - Its importance for the enlarged Europe - 2004
`http://www.ifcc.org/ejifcc/vol15no4/150412200406.htm`

150412200407.pdf ISO 15189:2003 and evidence based laboratory medicine - 2004
`http://www.ifcc.org/ejifcc/vol15no4/150412200407.htm`

734413.ILAC_UNIDO_publication_(Web).pdf Laboratory Accreditation in Developing Economies. Working paper No.2 ILAC-UNIDO 2003
`http://www.unido.org/file-storage/download/?file%5fid=55885`

Accreditation.pdf Principles of clinical laboratory accreditation - IFCC
`www.ifcc.org`

OPS-CGC-Completo.pdf Curso de Gestion de calidad para laboratorios
`http://www.paho.org/Spanish/AD/THS/EV/labs-CGC.htm`

OGC004.pdf interpretativo da ISO 15189 ogc004 , 2006. IPAC
`http://www.ipac.pt/docs/publicdocs/OGC004.pdf`

BIOSECURITY

lab-biosafety_omsspa.pdf Manual de Bioseguridad para laboratorios - OMS
`http://www.paho.org/spanish/ad/ths/ev/lab-biosafety_omsspa.pdf`

LAB-Cabinas_bioseguridad.pdf Cabinas de seguridad biologica: uso, desinfeccin y mantenimiento-PAHO
`http://www.paho.org/Spanish/AD/THS/EV/LAB-Cabinas_bioseguridad.pdf`

labstransporte2005esp.pdf Gua sobre la reglamentacion relativa al transporte de sustancias infecciosas -PAHO
`http://www.paho.org/spanish/ad/ths/ev/labstransporte2005esp.pdf`

EQUIPMENT

lab_manual-mantenimiento.pdf Manual de mantenimiento para equipo de laboratorio. Washington DC -OPS-2005
`http://www.paho.org/spanish/ad/ths/ev/lab_manual-mantenimiento.pdf`

pt050122.pdf Qualification of Analytical Instruments for Use in the Pharmaceutical Industry: A Scientific Approach. *AAPS* PharmSciTech 2004; 5 (1) Article 22
`http://www.aapspharmscitech.org/articles/pt0501/pt050122/pt050122.pdf`

VALDATION

4252fnl.pdf Bioanalytical Method Validation U.S. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration. May 2001
`http://www.fda.gov/cder/guidance/4252fnl.pdf`

EParticle0806lab_mgmt_CLSI.pdf Tholen D: CLSI evaluation protocols. *Med Lab Obs.* Aug 2006
`http://www.clsi.org/Content/NavigationMenu/Home/Homecontent/EParticle0806lab_mgmt_CLSI.pdf`

PREANALYTICAL AND POSTANALYTICAL PROCEDURES

1301200107.pdf Preanalytical Variables and Their Influence on the Quality of Laboratory Results, Narayanan S, Guder WG, eJIFCC vol 13 no1:
`http://www.ifcc.org/ejifcc/vol13no1/1301200107.htm`

140310200302.pdf The Importance of Preanalytical Factors in Immunodiagnostic Testing:
`http://www.ifcc.org/ejifcc/vol14no3/140310200302n.htm`

150412200404.pdf Pre and Post Examination Aspects 2004; 15(4)
`http://www.ifcc.org/ejifcc/vol15no4/150412200404.htm`

Errores - laboratory medicine.pdf Bonini P, Plebani M., Ceriotti F, Rubboli F: Errors in Laboratory Medicine. Clin Chem 2002; 48: 691-698
`http://www.clinchem.org/cgi/reprint/48/5/691`

Laboratory_Errors_P_Howanitz_Archives.pdf Howanitz J.P: Errors in Laboratory Medicine. Archives of Pathology and Laboratory
Medicine. 2005; 129:1252-1261.
`http://arpa.allenpress.com/pdfserv/10.10432F1%543-2165(2005)1295B12%52:EILMPL5D2.0.CO%3B2`

QUALITY ASSURANCE

Total Quality Management for Laboratories *Gabriele Mallapaty, 2001, The Public Health Care Laboratory*
`http://www.phclab.com/TQM/TQMhome.htm`

QA Training Programme.pdf Quality Assurance Training Programme for Primary Healthcare Laboratory Services *Gabriele Mallapaty, 2000, The Public Health Care Laboratory*
Quality assurance, training programs
`http://www.phclab.com/images/QA%20Training%20Programme.pdf`

The Role of Total Quality Management in Raising the Service Quality of Public Health Laboratories in Developing Countries *Gabriele Mallapaty, 1999, The Public Healthcare Laboratory*
`http://www.phclab.com/images/Thesis.pdf`

EQAS

EQAP_version_3-2002.pdf Guidelines for the Requirements for the Competence of EQAP organizers in medical laboratories- IFCC/EMD/C-AQ
`http://www.ifcc.org/index.php?option=com_remository&Itemid=120&func=fileinfo&id=20`

Fundamentals-for-EQA.pdf Fundamentals for EQA. IFCC . 2006
`http://www.ifcc.org/index.php?option=com_remository&Itemid=120&func=fileinfo&id=21`

QUALITY CONTROL

1715.pdf Fuentes-Arderiu X, Mir-Balagu J, Hyltoft Petersen P, G. Fraser CG: State of the Art Instead of Biological Variation to Set Requirements for Imprecision. *Clin Chem* 2000;46: 1715-1717.
`http://www.clinchem.org/cgi/reprint/46/10/1715`

qualityControl2006.pdf Westgard J. Quality Control How Labs Can Apply Six Sigma Principles To Quality Control Planning. Clinical Laboratory News. Jan 2006; 33:10-12
`http://www.aacc.org/AACC/publications/cln/monthlySeries.htm`

qualityControl2006.pdf Westgard J: Internal Quality control: Planning and implementation strategies. *Ann Clin Biochem.* 2003; 40: 593-611
`http://isacco.ingentaselect.com/vl=975790/cl=55/nw=1/rpsv/cw/rsm/00045632/v40n6/s2/p593`

UNCERTAINTY

1301200103 incertidumbre.pdf Kallner A: Uncertainty in Measurement, Introduction and Examples, eJIFCC vol 13 no1:
`http://www.ifcc.org/ejifcc/vol13no1/1301200103.htm`

130401006 incertidumbre.pdf Fuentes-Arderiu X: Uncertainty of measurement in Clinical Microbiology, eJIFCC vol 13 no 4:
`http://www.ifcc.org/ejifcc/vol13no4/130401006.htm`

140103200309.pdf Uncertainty of measurement and heteroscedasticity , eJIFCC vol 14 no 1:
`http://www.ifcc.org/ejifcc/vol14no1/140103200306n.htm`

1327.pdf Fuentes-Arderiu X: Influence Quantities and Uncertainty of Measurement. *Clin Chem* 2001;47:1327-1328.
`http://www.clinchem.org/cgi/content/full/47/7/1327`

1396 incertidumbre clin chem.pdf Patriarca M-, Castelli M., Corsetti F , Menditto A. Estimate of Uncertainty of Measurement from a Single-Laboratory Validation Study: Application to the Determination of Lead in Blood *Clinical Chemistry.* 2004;50:1396-1405
`http://www.clinchem.org/cgi/content/full/50/8/1396`



1437.pdf Xavier Fuentes-Arderiu. Uncertainty of Measurement in Clinical Laboratory Sciences *Clinical Chemistry*. 2000;46:1437-1438
`http://www.clinchem.org/cgi/content/full/46/9/1437`

526.pdf pdf Barbara Francis,et al Calculating Uncertainty of Measurement for SerologyAssays by Use of Precision and Bias, *Clinical Chemistry* 2006; 52: 526-529.
`http://www.clinchem.org/cgi/content/full/52/3/526`

Artculo doble.pdf Jan S. Krouwer. Point: Critique of the *Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement* Method of Estimating and Reporting Uncertainty in Diagnostic Assays. *Clinical Chemistry* 2003; 49:11 1818-1821
`http://www.clinchem.org/cgi/content/full/49/11/1818`

Jesper Kristiansen Counterpoint : The Guide to Expression of Uncertainty in Measurement Approach for Estimating Uncertainty: An Appraisal Clinical Chemistry. 2003;49:1822-1829
`http://www.clinchem.org/cgi/content/full/49/11/1822`

Incertidumbre IFCC.pdf Uncertainty in Measurement, Introduction and Examples, Kallner A, eJIFCC vol 13 no1:
`http://www.ifcc.org/ejifcc/vol13no1/1301200103.htm`

Uncertainty of measurement.pdf G.H. White, I. Farrance Uncertainty of Measurement in Quantitative Medical Testing - A Laboratory Implementation Guide - *Clin Biochem Rev* Vol 25 Suppl (ii) November 2004 I S1
`www.aacb.asn.au`

picrender.pdf White GH: Uncertainty of Measurement is Exactly That Clin Biochem Rev 2005; 26: 159-160
`http://www.pubmedcentral.nih.gov/picrender.fcgi?artid=1320179&blobtype=pdf`

picrender. 2 pdf.pdf Badrick T, Hawkins R, Wilson S, Hickman P: Uncertainty of Measurement: What it is and What it Should Be . *Clin Biochem Rev.* 2005; November; 26(4): 155-158.
`http://www.pubmedcentral.nih.gov/picrender.fcgi?artid=1320178&blobtype=pdf`

TRACEABILITY

130301002.pdf Reference Systems in Clinical Enzymology, Siekmann L, eJIFCC vol 13 no 3:
`http://www.ifcc.org/ejifcc/vol13no3/130301002.htm`

wfkivd.pdf William F. Koch Workshop on measurement traceability for clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems: A Report on the Workshop NIST
`http://www.cstl.nist.gov/nist839/ivd/wfkivd.pdf`

IVD_Proceedings[1].pdf Proceedings of the Workshop on Measurement Traceability for Clinical Laboratory Testing and In Vitro Diagnostic Test Systems. May 2001. NIST
`http://findarticles.com/p/articles/mi_m0IKZ/is_4_106/ai_80128167`

NCCLS.salit.pdf Marc Salit: Implementing Metrological Traceability in Laboratory Medicine: NCCLS role. NCCLS Leadership conference 2004.
`http://www.cstl.nist.gov/JCTLM%20Activities/nccls/NCCLS.salit.pdf`

Talk.wem.ppt Willie. E. May .Higher order Reference Methods and Reference Material for clinical Diagnostics. NIST
`www.cstl.nist.gov/JCTLM%20Activities/AACC%20Meeting%20Presentations/Talk .wem.ppt`

ANEXA 1

APLICAŢIA 1. PREPARAREA UNUI CALIBRATOR STANDARD

Se va prepara un calibrator standard pentru spectroscopie cu absorbţie atomică, AAS (Atomic Absorbtion Spectroscopy) din metal de înaltă puritate (în acest exemplu, o concentraţie de ≈ 1000 mg/L Cd în diluţie de HNO_3). (Astfel de concentraţii standard sunt, în măsurările analitice, referite standard trasabile la SI).

ETAPA 1. DEFINIREA/SPECIFICAREA MĂSURANDULUI

1.1 *Procedura pentru prepararea calibratorului standard.*

a) Suprafaţa metalului (Cd) de înaltă puritate este curăţată cu o soluţie acidă pentru înlăturarea oricărei urme de oxid, metoda de curăţire este specificată de către fabricantul metalului şi trebuie respectată pentru a obţine puritatea specificată în certificatul însoţitor.

b) Un balon cotat este cântărit fără şi cu o cantitate de 100 mg de Cd înăuntru. Balanţa pentru cântărire are rezoluţia de 0,01 mg.

c) 1 mL de acid azotic (65% m/m) şi 3 mL de apă deionizată sunt turnate în balonul cotat, pentru dizolvarea cadmiului. Apoi balonul cotat este umplut până la marcaj cu apă deionizată şi rotit de cel puţin 30 de ori.

1.2 *Măsurandul* este concentraţia soluţiei standard de calibrare, care depinde de cantitatea de metal (Cd), puritatea metalului şi de volumul de lichid din balonul cotat, exprimată prin relaţia

$$c_{Cd} = \frac{1000 \cdot m \cdot P}{V} \text{ [mg/L]}$$

în care

c_{Cd} - concentraţia calibratorului standard [mg/L]

m - masa metalului de înaltă puritate [mg]

P - puritatea metalului, exprimată ca fracţie de masă, procent

1000 - factorul de conversie a volumului, din [mL] la [L], (dimensiunea utilizată în relaţie este L)

V - volumul de lichid exprimat în mL

ETAPA 2. IDENTIFICAREA ŞI ANALIZAREA SURSELOR DE INCERTITUDINE

Parametrii care intră în relaţia concentraţiei,

$$c_{\mathrm{Cd}} = f(P, m, V)$$

în estimare lor, pot avea o eroare, deci fiecăruia i se poate asocia o incertitudine care se transmite în calculul incertitudinii compuse asociată măsurandului (concentraţia c_{Cd}). Aceste surse de incertitudine sunt actualizate în continuare.

2.1 *Puritatea metalului, P.* Puritatea, cadmiului specificată de producător, este $99,99 \pm 0,01\%$ adică $0,9999 \pm 0,0001$. Această valoare depinde de curăţirea suprafeţei metalului, care dacă este bine realizată nu apare pericolul de contaminarea suprafeţei cu oxizi. De asemenea, nu există informaţie cu privire la dizolvarea 100%, de aceea se verifică soluţia şi se repetă operaţia de prepararea până se obţine o dizolvare de 100%; în acest fel specificaţia de puritate dată de producător se poate considera că nu mai este afectată şi de alte surse de incertitudine.

2.2 *Masa, m.* Se prepară 100 mL de soluţie de Cd cu concentraţia de 1000 mg/L. Masa de Cd pentru această soluţie, cântarită cu balanţa, este de $m = 0,10028$ g. Sursele de incertitudine care pot afecta cântărirea sunt:

a) citirea pe scala balanţei

b) repetabilitatea (citirilor succesive)

c) calibrarea scalei, care, potenţial, are următoarele două surse de incertitudine:

- liniaritatea
- sensibilitatea (care poate fi neglijată)

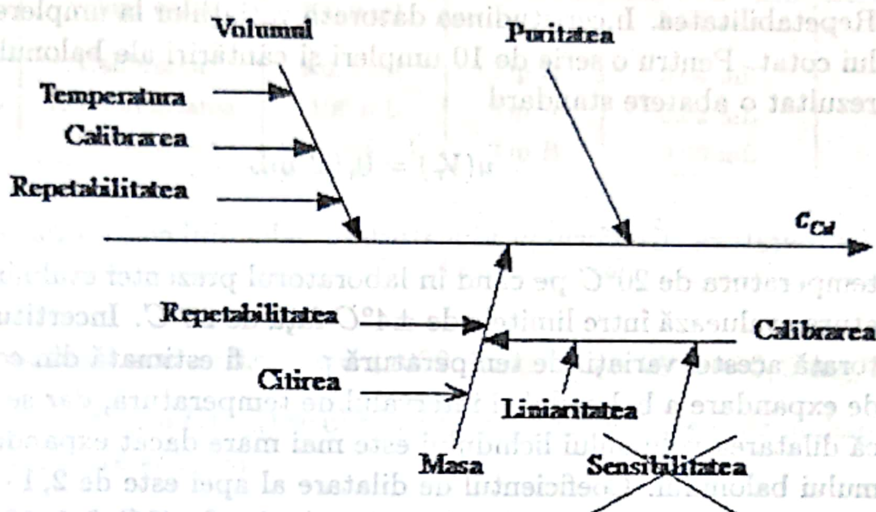
2.3 *Volumul, V.* Volumul de soluţie din balonul cotat poate fi afectat de următoarele surse de incertitudine:

a) incertitudinea de certificare a volumului balonului cotat specificată de către producător (calibrarea)

b) incertitudinea asociată umplerii la cotă a balonului (repetabilitatea)

c) temperatura soluţiei şi a balonului cotat diferă de temperatura la care balonul a fost cotat (temperatura).

Aceste efecte care intervin în evaluarea incertitudinii concentraţiei calibratorului standard sunt reprezentate în diagrama "cauză - efect" ("os - de - peşte", Ishikava) următoare



ETAPA 3. CUANTIFICAREA COMPONENTELOR DE INCERTITUDINE

În această etapă fiecare din sursele potenţiale de incertitudine , identificate în etapa 2, sunt fie direct măsurate, fie estimate utilizând o informaţie apriori.

3.1 *Puritatea.* Puritatea cadmiului este dată în certificatul însoţitor $0,9999 \pm 0,0001$.
Deoarece nu există nici o altă informaţie referitoare la incertitudinea asociată acestei valori se consideră o distribuţie de probabilitate dreptunghiulară cu semiintervalul $a = 0,0001$. Incertitudinea standard se determină cu relaţia (3.6)

$$u(P) = \frac{0,0001}{\sqrt{3}}$$

3.2 *Masa.* Incertitudinea asociată determinării masei este indicată de către producătorul de balanţă ca fiind

$$u(m) = 0,05 \text{ mg}$$

care include toate cele trei surse potenţiale identificate anterior.

3.3 *Volumul.* În estimarea volumului sunt trei surse de incertitudine: calibrarea, repetabilitatea şi efectele de temperatură.

a) Calibrarea. Producătorul specifică pentru balonul cotat 100mL±0, 1mL la temperatura de 20°C. Se va considera o distribuţie triunghiulară

(vezi exemplul 1.7) deci incertitudinea standard se calculează cu relaţia (3.7)

$$u(V_c) = \frac{0,1\ \text{mL}}{\sqrt{6}} = 0,04\ \text{mL}$$

b) Repetabilitatea. Incertitudinea datorată vatiaţiilor la umplerea balonului cotat. Pentru o serie de 10 umpleri şi cântăriri ale balonului cotat a rezultat o abatere standard

$$u(V_r) = 0,02\ \text{mL}$$

c) Temperatura. Conform producătorului balonului cotat a fost calibrat la temperatura de $20°C$ pe când în laboratorul prezentei evaluări temperatura evaluează între limitele de $\pm 4°C$ faţă de $20°C$. Incertitudinea datorată acestei variaţii de temperatură poate fi estimată din coeficientul de expandare a balonului şi intervalul de temperatură, dar se consideră că dilatarea volumului lichidului este mai mare dacât expandarea volumului balonului. Coeficientul de dilatare al apei este de $2,1 \cdot 10^{-4}/°C$, care duce la la o variaţie de volum de $\pm(100\ \text{mL} \cdot 4°C \cdot 2,1 \cdot 10^{-6}/°C) = \pm 0,084$ mL. Considerând pentru variaţia de temperatură o distribuţie rectangulară, incertitudinea standard, calculată cu relaţia(3.7) este

$$u(V_t) = \frac{0,084}{\sqrt{3}} = 0,05\ \text{mL}$$

Cele trei surse de incertitudine care afectează măsurarea volumului sunt combinate în incertitudinea standard $u(V)$ asociată volumului V

$$u(V) = \sqrt{u(V_c)^2 + u(V_r)^2 + u(V_t)^2} = \sqrt{0,04^2 + 0,02^2 + 0,05^2}$$
$$= 0,07\ \text{mL}$$

ETAPA 4. CALCULUL INCERTITUDINII COMBINATE

Valorile pentru calculul incertitudinii combinate sunt trecute în tabelul următor Cu valorile din tabel se calculează concentraţia calibratorului standard

$$c_{Cd} = \frac{1000 \cdot m \cdot P}{V} = \frac{1000 \cdot 100,28 \cdot 0,9999}{100,0} = 1002,7\ \text{mg/L}$$

Pentru această expresie multiplicativă incertitudinea combinată se calculează conform relaţiei (3.10-b)

$$\frac{u_c(c_{Cd})}{c_{Cd}} = \sqrt{\left(\frac{u(P)}{P}\right)^2 + \left(\frac{u(m)}{m}\right)^2 + \left(\frac{u(V)}{V}\right)^2}$$
$$= \sqrt{\left(\frac{0,000058}{0,9999}\right)^2 + \left(\frac{0,05}{100,28}\right)^2 + \left(\frac{0,07}{100}\right)^2} = 0,0009$$

Simbol	Descriere	Valoare	Tip incert.	Incertitudinea standard, $u(x)$	Contribuţia relativă, %
P	Puritate metal	0,9999	Tip B	0,000058	0,01
m	Masă metal	100,28 mg	Tip B	0,05	33,78
V	Volum balon	100,0 mL		0,07 mL	66,21
V_c	Calibrarea	$\pm 0,1$ mL	Tip B	0,04 mL	
V_r	Repetabilitatea	100 mL	Tip A	0,02 mL	
V_t	Temperatura	$\pm 0,084$ mL	Tip B	0,05 mL	
c_{Cd}	Concentraţia calibratorului standard	1002,7 mg/L		$u_c(c_{Cd}) = 0,9$ mg/L	$\frac{u_c(c_{Cd})}{c_{Cd}} = 0,0009$

$$u_c(c_{Cd}) = c_{Cd} \cdot 0,0009 = (1002,7 \text{ mg/L}) \cdot 0,0009 = 0,9 \text{ mg/L}$$

Incertitudinea extinsă $U(c_{Cd})$ se obţine utilizând un coeficient de multiplicare $k = 2$ (nivel de încredere $\approx 95\%$)

$$U(c_{Cd}) = 2 \cdot 0,9 \text{ mg/L} = 1,8 \text{ mg/L}$$

Concentraţia calibratorului se raportează:

- În valori absolute: $c_{Cd} = 1002,7 \pm 1,8$ [mg/L] (pentru $k = 2$)
- În valori relative: $c_{Cd} = 1002,7 \pm 0,17\%$ [mg/L] (pentru $k = 2$)



ANEXA 2

APLICAŢIA 2. ESTIMAREA INCERTITUDINI ASOCIATE PROCESULUI DE MĂSURARE A GLICEMIEI PE UN AUTOANALIZOR UTILIZAND METODA ANALITICĂ.

Caracteristica de transfer pentru analizor este cea exprimată prin relaţia (2.15), care se retranscrie sub următoarea formă

$$C_x = C_0 + \frac{A_x - A_0}{A_{cal} - A_0}\left(C_{cal} - C_0\right) = C_0 + \frac{A_x^{'}}{A_{cal}^{'}}\left(C_{cal} - C_0\right) \qquad \text{(A2.1)}$$

În a doua egalitate s-a substituit $A_x - A_0$ cu $A_x^{'}$ (semnalul de absorbţie obţinut pentru probă corectat cu blancul) şi $A_{cal} - A_0$ cu $A_{cal}^{'}$ (semnalul de absorbţie obţinut pentru calibrator corectat cu blancul). Toate mărimile care apar în partea dreaptă a egalităţii sunt mărimi de intrare în modelul matematic pentru procesul de măsurare pe autoanalizor. Fiecare din aceste mărimi de intrare este afectată de o incertitudine, iar aceste incertitudini contribuie la incertitudinea asociată valorii măsurate, C_x, a probei de glucoză.

Modelul teoretic (A2.1) trebuie completat încât să includă şi alte surse de incertitudine care intervin în procesul de măsurare, în consecinţă se introduc în relaţie următorii coeficienţi

d - Factor care include diluţia probei. Această diluţie poate fi realizată de analist înainte de introducerea probei în analizor sau chiar (automat) de către analizor. Pentru a calcula concentraţia, în cazul probei diluate, este necasar ca rezultatul obţinut să fie multiplicat cu factorul de diluţie d. Expresia factorului de diluţie este $d = (V_1 + V_2)/V_1$ în care: V_1 - este volumul probei [μL]; V_2 - este volumul diluentului (reactiv + apă), [μL].

k_{matr} - Factorul de matrice. Acest factor reflectă faptul că proba şi calibratorul nu sunt perfect "comutabile", adică există efectul de matrice. Orice diferenţă între macrostructura şi compoziţia probei şi cea a calibratorului poate produce diferenţă în răspunsul analizorului (Figura 2.6-b).

k_{drift} - Uzual, calibrarea este efectuată lunar sau săptămânal, iar controlul cu ser de control la fiecare şase ore. Informaţia obţinuta prin probele de control este

înscrisă în diagramele de control (Shewart) şi constituie parte a controlului intern de calitate. Schimbarea sensibilităţii aparatului ("drift") între calibrări, adică modificarea în timp a pantei dreptei de calibrare (Figura 2.6-c), duce, evident, la modificarea valorii concentraţiei măsurate. Dacă măsurările asupra probelor de control indică valori care se situează în afara unui interval acceptat atunci se repetă controlul, iar dacă abaterile persistă se realizează calibrarea. Stabilitatea în timp a analizorului, constanţa valorii pantei caracteristicii de transfer (caracteristica de calibrare) este testată de către furnizor la instalare, iar de către laborator, la calibrarea analizorului. Factorul de drift este introdus în modelul matematic pentru a lua în considerare incertitudinea asociată eventualei apariţii a instabilităţii în timp ("drift") a analizorului asupra valorii măsurate.

$k_{preanalitic}$ - În etapa prelevării probei (sampling) şi preparării acesteia pot apare multe surse de eroare (Figura 3.2), deci componente de incertitudine care afectează valoarea măsurată, ca de exemplu:

- contaminarea şi/sau pierderi datorate echipamentului utilizat;
- tehnica de prelevare şi în general manipularea probelor pentru a evita, de exemplu, hemoliza;
- efectele de timp şi de temperatură, de exemplu, în timpul depozitării;
- reglării speciale ale instrumentelor, de exemplu, poziţia tubului şi viteza în timpul centrifugării;
- concentraţia chimicalelor şi a reactivilor, de exemplu, acele prezente în tubul unde proba (sânge intergal) este colectată.

Toate aceste posibile efecte, surse de incertitudine asupra valorii măsurate, sunt luate în considerare în modelul matematic prin introducerea termenului $k_{preanalitic}$.

k_{intra} - Concentraţia tuturor componentelor clinice relevante, din sângele uman, depinde de factori biologici şi de altă natură, cum sunt: ritmul zilnic, dieta, stressul sau somnul. Aceştia pot fi incluşi în evaluarea incertitudinii prin considerarea factorului intra-individual, k_{intra}, iar valoarile utilizate se culeg din literatură.

Modelul matematic (A2.1), prin introducerea efectelor de mai sus devine

$$C_x = \left[C_0 + \frac{A'_x}{A'_{cal}}(C_{cal} - C_0)\right] \cdot d \cdot k_{matr} \cdot k_{drift} \cdot k_{intra} + k_{preanalitic} \qquad \text{(A2.2)}$$

Observaţie: Aceste efecte se pot introduce în modelul matematic fie ca termeni (de sumă) fie ca factori (de produs). Valoarea nominală (în absenţa efectul introdus) a unui factor (produs) este cosiderată ca fiind egală cu 1, iar valoarea nominală

(în absenţa efectul introdus) a unui termen (sumă) este cosiderată ca fiind egală cu 0. **Dar, evident, chiar şi aceste valori nominale ale factorilor introduşi în modelul matematic prezinta o incertitudine asociată.** Contribuţia fazei preanalitice, coeficientul $k_{preanalitic}$, este introdusă în model sub forma unui termen (sumă) deoarece această fază are multe componente (enumerate anterior) şi care nu sunt dependente de concentraţie. Modelul utilizat pentru calculul incertitudinii nu va lua în considerare şi efectul intra-individual.

Valoarea concentraţiei de glucoză, C_g, conform relaţiei (A2.2) rezultă:

$$C_g = \left[0 + \frac{0,3}{0,3445}(8,04 - 0)\right]\left(\frac{1,6 + 200}{200}\right) \cdot 1 \cdot 1 \cdot 1 + 0 = 7,06 \text{ mmol/L}$$

iar pentru calculul incertitudinii compuse, conform relaţiei (3.8-b) rezultă:

$$u_c(C_g) = \sqrt{c^2_{A'_x} \cdot u^2(A'_x) + c^2_{A'_{cal}} \cdot u^2(A'_{cal}) + c^2_{C_0} \cdot u^2(C_0) + c^2_{C_{cal}} \cdot u^2(C_{cal}) + c^2_{V_1} \cdot u^2(V_1) + c^2_{V_2} \cdot u^2(V_2)} = 0,2115 \text{ mmol/L}$$

Incertitudinea extinsă, pentru $k = 2$, este $U = 2 \cdot 0,2115 = 0,43$ mmol/L, iar valoarea raportată numai cu două zecimale este

absolut $C_g = 7,06 \pm 0,43$ [mmol/L] pentru $k = 2$

relativ $C_g = 7,06 \pm 6\%$ [mmol/L] pentru $k = 2$

Comparând valoarea relativă a incertitudinii extinse, de 6%, obţinută prin această metodă analitică, cu incertitudinea de 7%, obţinută prin utilizarea datelor din controlul intern de calitate şi din evaluarea interlaboratoare, Exemplul 3.11 cu aplicarea corecţiei, se constată valori apropiate. Este normal ca în Exemplul 3.11 incertitudinea extinsă să fie o valoare puţin mai mare deoarece prin metoda respectivă sunt consideraţi toţi factorii de eroare (şi cei care au fost omişi prin această metoda analitică).

Bugetul de incertitudine pentru această metodă analitică este prezentat în tabelul următor [6]

Măsurand: concentrația totală de glucoză, (C_g), în probă de plasmă umană

Simbol X_i	Componente (Surse de incertitudine)	Valoare X_i	Unitate de măsură	Informație furnizată pentru evaluarea incertitudinii $u(X_i)$		Tip	$u(X_i)$	$\|c_i\|$	%
				Valoare	Sursă				100
A'_x	Semnalul de absorbanță (corectat cu blanc-ul)	0,3	[AU]	0,006	Reproductibilitatea internă din controlul intern de calitate, 2%	A	0,0060	23,5249	44, 56%
A'_{cal}	Semnalul de absorbanță al calibratorului (corectat cu blancul)	0,3445	[AU]	0,0046	Dispersia experimentală pe durata a șase luni	A	0,0046	-20,486	19, 86%
C_0	Concentrația în glucoză a blancului (apă pură)	0	mmol/L	0	Se consideră că incertitudinea pt. "concentrația" apei este zero	-	0,0000	0,13021	0, 00%
C_{cal}	Concentrația în glucoză a calibratorului	8,04	mmol/L	0,1437	Calibrator trasabil MR NIST 965	B	0,1437	0,87779	35, 58%
V_1	Volumul eșantionului (automat)	1,6	μL	Bias: 0,03 $s(V_1): 0,014$	Incertitudinea pipetelor indicată de furnizor	B	0,0223	0,03501	0, 00%
V_2	Volumul reactiv + apă (automat)	200	μL	Bias: 1,6 $s(V_1): 0,3$	Incertitudinea pipetelor indicată de furnizor	B	0,9700	0,003	0, 00%
k_{matr}	Factorul de matrice	1	-	0	Nu există informație	-	0		
k_{drift}	Factorul de sensibilitate	1	-	0	Informația de la fabricant sau inclusă în precizie	-	0		
$k_{preanalitic}$	Corecția pt. faza preanalitică	0	mmol/L	0	Plan de prelevare, 4% la 5 mmol/L	-	0		

Liniile în nuanță gri au fost neglijate în calcul din lipsă de informație

ANEXA 3

EXEMPLU DE FIŞE DE VALIDARE

Nr. crt.	Conţinutul fişei de validare	
1.	Specificarea metodei	
	a. denumirea analizei	Determinarea ureei din ser prin metoda numită - **urează**
	b. măsurand	Uree
	c. sursa metodei	Metoda dezvoltată în laboratoarele Hoffman La Roche Diagnostics - Germania; nu s-au adus modificari metodei. Metoda a fost standardizată folosind SRM 909b.
2.	Responsabil de validare	Ioana POPESCU - biolog. Se anexează copii după documente de calificare - Anexa *
3.	Condiţii de mediu	
	a. echipament	$T = 20 - 25°C$; Umiditate $= 40 - 60\%$
	b. proba	$T = 4 - 8°C$ şi $T = [-20°C \ldots\ldots - 25°C]$
	c. reactivi	$T = 20 - 25°C$
4.	Echipamentul	
	a. denumire	Analizor automat - biochimie - COBAS INTEGRA 400 PLUS
	b. producator	Hoffman La Roche - Germania
	c. serie	398390/2006
	d. nr. Inventar	0731
	e. certificat de etalonare nr. 05.01 - 716/2007 se ataşează certificatul de etalonare - Anexa *	Nivel normal: $U_{extinsă} = 8,0$ mg/dL , $k = 2$;
		Nivel patologic: $U_{extinsă} = 2,6$ mg/dL, $k = 2$;
	f. domeniul de măsură	$D_M = 0 - 240$ mg/dL (specificat de producător)
	g. curba de calibrare	Se obţine utilizând calibrator pentru sisteme automate Cobas - Roche Diagnostics. (Se anexează curba de calibrare - pentru uree - Anexa *)

Continuare pe pagina următoare

TABEL 5 – continuare de pe pagina precedentă

Nr. crt.	Conţinutul fişei de validare	
	h. înregistrări de mentenanţă	Analizorul este nou. Analizorul zilnic îşi face automat următoarele operaţii de întreţinere: spălare tubulatură şi ace şi deproteinizare. (Se ataşează procesul verbal de instalare al echipamentului, anexa * şi eventual de mentenaţă). Pentru un analizor în funcţiune se specifică datele generate de mentenţă.
5.	Reactivi utilizaţi	Reactivii sunt adecvaţi lucrului cu echipamentul (este sistem închis), care urmează a fi utilizat şi sunt în termen de valabilitate. Reactivi Roche Diagnostics, lot 69193601, data expirării 05.2008 (se ataşează certificate de calitate/declaraţii de conformitate, Anexa *). Reactivul este stabil la bordul echipamentului;
6.	Materiale de referinţă	Materialele de referinţă (pentru acest sistem închis) sunt adecvate metodei care urmează a fi validată şi sunt în termen de valabilitate - Anexa *: - **nivel normal:** ser de control "Precinorm U" lot: 175650; data expirării: 12.2008, cu valori in intervalul: [34,8 - 47,4] mg/dL, valoarea ţintă = 41,1 mg/dL; $SD = 2,1$ mg/dL; - **nivel patologic:** ser de control "Precipath U" lot: 174531; data expirării: 11.2008, cu valori în intervalul: [133 - 181] mg/dL, valoarea ţintă = 157 mg/dL; $SD = 8$ mg/dL;
7.	Limita minimă de detecţie - L_D	Deoarece $L_{Cm} = 0$ mg/dL se cosideră $L_D = 0$ mg/dL, (nu are relevanţă clinică!)
8.	Limita minimă de cuantificare/ măsurare - L_Q	Evident $L_Q > 0$ mg/dL, dar este irelevantă din punct de vedere clinic deoarece limita minimă a domeniului de referinţă =20 mg/dL >> L_Q, deci se consideră $L_Q = L_{Cm} = L_I = 0$ mg/dL.
9.	Limita maximă de măsurare - L_M	$L_M = 240$ mg/dL (din catalog). Prin testarea unei probe de 240 mg/dL s-a verificat capacitatea analizorului de măsurare la limita superioară ($L_M = L_S$)
10.	Domeniul de măsurare	$D_M = [L_I, L_S] = [0 - 240]$ mg/dL
	Valori biologice de referinţă	Adulţi: 20-40 mg/dL

Continuare pe pagina următoare

TABEL 5 – continuare de pe pagina precedentă

Nr. crt.	Conţinutul fişei de validare	
11.	Liniaritatea	Din curba de calibrare (Anexa ∗) rezultă: Limita minima de calibrare $L_{Cm} = 0$ mg/dL; Limita maxima de calibrare $L_{CM} = 110$ mg/dL; Domeniul de calibrare este $\mathrm{D_C} = (0 - 110)$ mg/dL. **Pe întreg domeniu de calibrare, $\mathrm{D_C}$, caracteristica de transfer este liniară şi se consideră caracteristică liniară până la valoarea $\mathrm{L_{LM} = L_S = L_M}$.** Domeniul de referinţă $D_R = (20 - 40)$ mg/dL, deci D_R este inclus în D_C, $D_R \subset D_C$, astfel se asigură liniaritate pentru măsurarea probelor. Domeniul de măsurare $D_M = 0 - 240$ mg/dL, domeniul de calibrare, $D_C = (0 - 110)$ mg/dL, deci este inclus în domeniul de măsurare, $(\mathrm{D_R \subset D_C \subset D_M})$.
12.	Imprecizia - (Anexa ∗)	**Nivel normal:** Repetabilitate $m = 38,35$ mg/dL; $SD = 0,50$ mg/dL; $CV = 1,32\%$. $CV = 1,32\% < 3,0\%$ (limită impusă în [17]).
		Nivel patologic: Repetabilitate $m = 156.41$ mg/dL; $SD = 2,81$ mg/dL; $CV = 1,80\%$. $CV = 1,80\% < 1,9\%$ (limită impusă în [17]).
		Nivel normal: Reproductibilitate internă, pe durata a ... zile/ luni (este recomandat ca datele să fie obţinute din baza de date a controlului intern de calitate) $m = 39,44$ mg/dL; $SD = 2,25$ mg/dL; $CV = 5,71\%$ $CV = 5,71\% > 4,85\%)$! (limită impusă în [17]).
		Nivel patologic: Reproductibilitate internă, pe durata a ... zile/ luni (este recomandat ca datele să fie obţinute din baza de date a controlului intern de calitate) $m = 157,08$ mg/dL; $SD = 6,44$ mg/dL; $CV = 4,10\%$; $CV = 4,10\% > 2,5\%$! (limită impusă în [17]). Pentru valorile CV, din acest exemplu, atât pentru nivel normal cât şi nivelul patologic, imprecizia depăşeşte limitele prescrise pentru uree, deci se impune analizarea factorilor care influenţează funcţionarea în timp a analizorului. (reproductibilitatea internă)
		Nivel normal: $D = 1,66$ mg/dL; $D[\%] = 4,03\%$ $D[\%] = 4,03\% < 6,9\%$ (limită impusă în [17]).

Continuare pe pagina următoare

TABEL 5 – continuare de pe pagina precedentă

Nr. crt.	Conţinutul fişei de validare	
		Nivel patologic: $D = 0,08$ mg/dL ; $D[\%] = 0,05\%$ $D[\%] = 0,05\% < 4,3\%$ (limită impusă în [17]).
13.	Inexactitatea (pe reproductibilitate internă) Anexa *	S-au efectuat 42 (pentru nivelul normal) şi respectiv 43 (pe nivelul patologic) de măsurări - cu următoarele materiale de referinţă: **nivel normal:** ser de control "Precinorm U" lot: 175650; data expirării: 12.2008; cu valori în intervalul: $[34,8 - 47,4]$ mg/dL; valoarea ţintă = 41,1 mg/dL; SD = 2,1 mg/dL; valoare medie calculată m = 39,44 mg/dL. **nivel patologic:** ser de control "Precipath U" lot: 174531; data expirării: 11.2008; cu valori în intervalul: $[133 - 181]$ mg/dL; valoarea ţintă = 157 mg/dl; SD = 8 mg/dL; valoare medie calculată m = 157,08 mg/dL.
14.	Incertitudinea de măsurare	Se ataşează fişa de calcul - vezi Anexa 4

* Anexele se ataşează raportului de validare

ANEXA 4

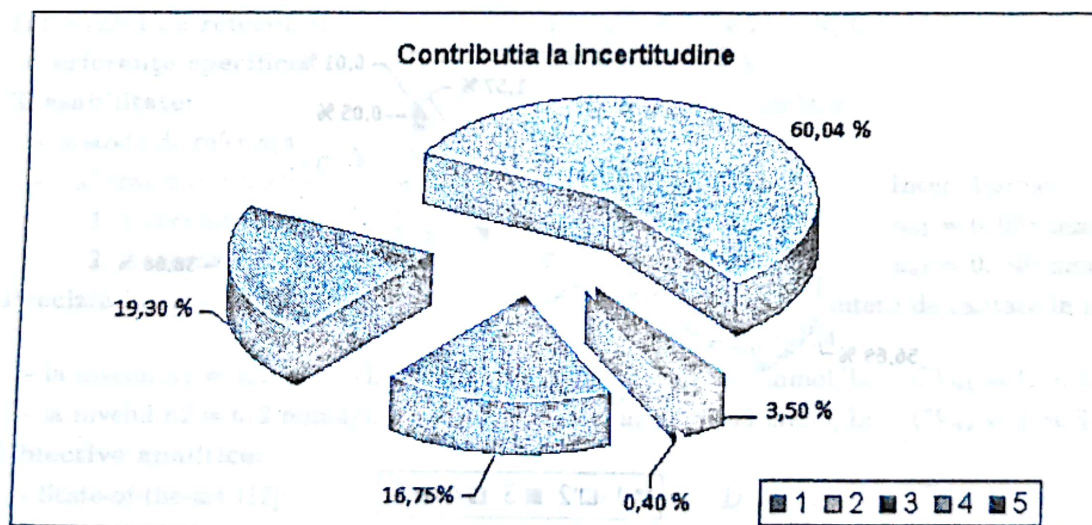
EXEMPLU DE ESTIMARE ŞI RAPORTARE PENTRU INCERTITUDINEA DE MĂSURARE

	Material de referinţă*: (nivel normal) Ser de control "PRECINORM U" Lot 175650; Expiră: 12.2008	Valori [mg/dL]	Material de referinţă*: (nivel patologic) Ser de control "PRECIPATH U" Lot 174531; Expiră: 11.2008	Valori [mg/dL]
1.	Reproductibilitate: $m = 39,44$; $CV = 5,71\%$	$s(x) = 2,25$ $u_p = 2,25$	Reproductibilitate: $m = 157,08$; $CV = 4,10\%$	$s(x) = 6,44$ $u_p = 6,44$
2.	Deplasare: $D = m - \text{ţintă} = 39,44 - 41,1$	$D = 1,66$ $u_D = 0,95$	Deplasare: $D = m - \text{ţintă} = 157,08 - 157,00$	$D = 0,08$ $u_D = 0,046$
3.	Materialul de referinţă: $SD = 2,1$ mg/dL	$u_r = 2,1$	Materialul de referinţă: $SD = 8$ mg/dL	$u_r = 8$
4.	Incertitudinea de etalonare de pe certificatul - INM	$U_{et} = 8,0$ $u_{et} = 4,0$	Incertitudinea de etalonare de pe certificatul - INM	$U_{et} = 2,6$ $u_{et} = 1,3$
5.	Se introduc şi alţi factori ce pot influenţa rezultatul (temperatura ambientală, neliniaritatea, robusteţea, interferenţe etc) numai dacă este nevoie (şi se estimează contribuţia acestora).	$u_f = 0,25$	Se introduc şi alţi factori ce pot influenţa rezultatul (temperatura ambientală, neliniaritatea, robusteţea, interferenţe etc) numai dacă este nevoie (şi se estimează contribuţia acestora).	$u_f = 0,25$
6.	Incertitudinea compusă: $u_C = \sqrt{(u_p^2 + u_{et}^2 + u_D^2 + u_r^2 + u_f^2)}$	5,14	Incertitudinea compusă: $u_C = \sqrt{(u_p^2 + u_{et}^2 + u_D^2 + u_r^2 + u_f^2)}$	10,35
7.	Incertitudinea extinsă: $U = 2 \cdot u_C$ (pentru $k = 2$)	10,28	Incertitudinea extinsă: $U = 2 \cdot u_C$ (pentru $k = 2$)	20,70
8.	Raportarea rezultatului, în valori absolute: $R = x \pm U$ (pentru $k = 2$)	$39,44 \pm 10,28$	Raportarea rezultatului, în valori absolute: $R = x \pm U$ (pentru $k = 2$)	$157,08 \pm 20,70$
9.	Raportarea rezultatului, în valori relative: $R = x \pm U$ (pentru $k = 2$)	$39,44 \pm 26,77\%$	Raportarea rezultatului, în valori relative: $R = x \pm U$ (pentru $k = 2$)	$157,08 \pm 14,43\%$

* Analizorul funcţionând în sistem închis, se utilizează serul de control ca material de referinţă.

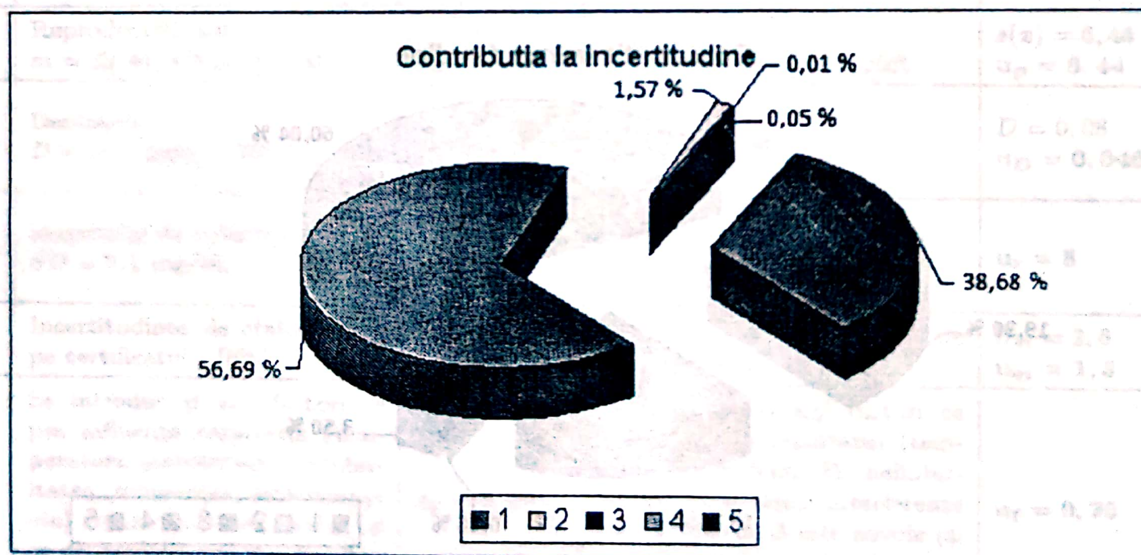
Nivel normal

Nr. crt.	Sursa		Simbol	x_i	Coef. sensibilitate	$u(x_i)$	%
1.	Material de ref.	Incertitudine	u_r	2,1	1	2,1	19,30%
2	Echipament	Etalonare	u_{et}	4	1	4	60,4%
3		Exactitate	u_D	0,95	1	0,95	3,5%
4		Alţi factori - temp.	u_f	0,25	1	0,25	0,40%
5	Reproductibilitatea		u_p	2,25	1	2,25	16,75%
Incertitudinea standard compusă			u_c			5,14	
Incertitudinea extinsă			U			10,28	



Nivel patologic

Nr. crt.	Sursa		Simbol	x_i	Coef. sensibilitate	$u(x_i)$	%
1.	Mat. de ref.	Incertitudine	u_r	8,0	1	8.0	59.69%
2	Echipament	Etalonare	u_{et}	1,3	1	1.3	1.57%
3		Exactitate	u_D	0.046	1	0.046	0.01%
4		Alţi factori - temp.	u_f	0,25	1	0.25	0.05%
5	Reproductibilitatea		u_p	6,44	1	6.44	38.68%
Incertitudinea standard compusă					u_c	10.35	
Incertitudinea extinsă					U	20.70	



ANEXA 5

FIŞĂ PENTRU ESTIMAREA INCERTITUDINII DE MĂSURARE CONFORM ASOCIAŢIEI AUSTRALASIENE DE BIOCHIMIE CLINICĂ [18]

Definirea măsurandului: Concentraţia potasiului în plasmă

Principiul metodei Electrod ion selectiv Valinomycine

Unitate de măsură mmol/L

Intervalul de referinţă: Plasmă: 3,2 - 4,3 mmol/L

Interferenţe specifice: Hemoliză, EDTA

Trasabilitate: Furnizată de producător

- Metoda de referinţă: Gravimetrie
- Calibrator (nivel de încredere 95%)

	Valoare:	Incertitudine:
1. Concentraţie scăzută	$3,00 \pm 0,07$ mmol/L	$u_{e1} = 0,035$ mmol/L
2. Concentraţie ridicată	$7,00 \pm 0,08$ mmol/L	$u_{e1} = 0,040$ mmol/L

Precizie intermediară: Obţinută din controlul intern de calitate în intervalul 01.01.04 - 20.07.04

- la nivelul $n1 = 4,2$ mmol/L: $SD = u_{n1} = 0,04$ mmol/L; $CV_{n1} = 1,06\%$
- la nivelul $n2 = 6,2$ mmol/L: $SD = u_{n2} = 0,05$ mmol/L; $CV_{n2} = 0,86\%$

Obiective analitice:

- State-of-the-art [17]: $CV = 1,6\%$; $D = 3,1\%$
  (pentru nivelul mediu de concentraţie)
- Variaţia biologică [10]: $CV_I = 4,8\%$
- Limită dorită: $CV < 0,5 \cdot CV_I = 2,4\%$

($CV_{n1} = 1,06\%; CV_{n2} = 0,86\% < 0,5 \cdot CV_I = 2,4\%$ după [10] sau $CV = 1,6\%$ după [17], rezultă obiectiv analitic îndeplinit)

Incertitudinea de măsurare:

- pentru nivelul $n1 = 4,2$ mmol/L:

$$u_{c(n1)} = \sqrt{u_{e1}^2 + u_{n1}^2} = \sqrt{0,035^2 + 0,04^2} = 0,05 \text{ mmol/L}$$

$$U_{n1} = 2 \cdot u_{c(n1)} = 2 \cdot 0,05 = 0,1 \text{ mmol/L}$$

- pentru nivelul $n2 = 6,2$ mmol/L:

$$u_{c(n2)} = \sqrt{u_{e2}^2 + u_{n2}^2} = \sqrt{0,04^2 + 0,05^2} = 0,06 \text{ mmol/L}$$

$$U_{n2} = 2 \cdot u_{c(n2)} = 2 \cdot 0,06 = 0,12 \text{ mmol/L}$$

($\approx 0,10$ mmol/L)

Valoare raportată:

- pentru nivelul $n1 = 4,2$ mmol/L: $4,2 \pm 0,1$ mmol/L
- pentru nivelul $n2 = 6,2$ mmol/L: $6,2 \pm 0,1$ mmol/L

ANEXA 6

CERINŢELE DE CALITATE ANALITICĂ (DUPĂ CLIA 88)
Valori pentru eroarea totală admisă, TE_a (Allowable Total Error).
Pentru actualizare vezi http://www.westgard.com/clia.htm

Routine Chemistry

Test or Analyte	Acceptable Performance
Alanine aminotransferase	Target value ±20%
Albumin	Target value ±10%
Alkaline phosphatase	Target value ±30%
Amylase	Target value ±30%
Aspartate aminotransferase (AST)	Target value ±20%
Bilirubin, total	Target value ±0.4 mg/dL or ±20% (greater)
Blood gas p02	Target value $\pm 3SD$
Blood gas pC02	Target value ±5 mm Hg or ±8% (greater)
Blood gas pH	Target value ±0.04
Calcium, total	Target value ±5 mm Hg or ±8% (greater)
Chloride	Target value ±5%
Cholesterol, total	Target value ±10%
Cholesterol, high dens. lipoprotein	Target value ±30%
Creatine kinase	Target value ±30%
Creatine kinase isoenzymes	MB elevated (present or absent) or Target value $\pm 3SD$ Creatinine
Creatinine	Target value ±0.3 mg/dL or ±15% (greater)
Glucose	Target value ±6mg/dL or ±10% (greater)
Iron, total	Target value ±20%
Lactate dehydrogenase (LDH)	Target value ±20%
LDH isoenzymes	Target value LDH1/LDH2 (+ or -) or Target value ±30%
Magnesium	Target value ±25%
Potassium	Target value ±0.5 mmol/L
Sodium	Target value ±4 mmol/L
Total protein	Target value ±10%
Triglycerides	Target value ±25%
Urea Nitrogen	Target value ±2 mg/dL or ±9% (greater)
Uric acid	Target value ±17%

Toxicology

Theophylline	Target value ±25%
Tobramycin	Target value ±25%
Procainamide (and metabolite)	Target value ±25%
Quinidine	Target value ±25%
Valproic acid	Target value ±25%

Hematology

Test or Analyte	Acceptable Performance
Cell identification	90% or greater consensus on identification
White cell differentiation	Target ±3*SD* based on percentage of different types of white cells
Erythrocyte count	Target value ±6%
Hematocrit	Target value ±6%
Hemoglobin	Target value ±7%
Leukocyte count	Target value ±15%
Platelet count	Target value ±25%
Fibrinogen	Target value ±20%
Partial thromboplastin time	Target value ±15%
Prothrombin time	Target value ±15%

Endocrinology

Test or Analyte	Acceptable Performance
Cortisol	Target value ±25%
Free thyroxine	Target value ±3*SD*
Erythrocyte count	Target value ±6%
Human chorionic gonadotropin	Target value ±3 SD or (positive or negative)
T3 uptake	Target value ±3 SD by method
Triiodothyronine	Target value ±3 SD
Thyroid stimulating hormone	Target value ±3 SD
Thyroxine	Target value ±20% or 1.0 mcg/dL (greater)

Hematology

Test or Analyte	Acceptable Performance
Alpha-1 antitrypsin	Target value ±3 SD
Alpha-fetoprotein	Target value ±3 SD
Antinuclear antibody	Target value ±2 dilution or (pos. or neg.)
Antistreptolysin O	Target value ±2 dilution or (pos. or neg.)
Anti-Human Immunodeficiency virus	Reaction or nonreactive
Complement C3	Target value ±3 SD
Complement C4	Target value ±3 SD
Hepatitis (HbsAg, anti-HBc, HbeAg)	Reactive (positive) or nonreactive (negative)
IgA	Target value ±3SD
IgE	Target value ±3% SD
IgG	Target value ±25%
IgM	Target value ±3 SD
Infectious mononucleosis	Target value ±2 dilution or (pos. or neg.)
Rheumatoid factor	Target value ±2 dilution or (pos. or neg.)
Rubella	